



<https://tbj.ui.ac.ir/?lang=en>

Taxonomy and Biosystematics

E-ISSN: 2322-2190

Document Type: Research Paper

Vol. 14, Issue 4, No.53, (2023), P:93-112

Received: 02/01/2023 Accepted: 26/04/2023

Genetic Diversity Assessment of Saltcedar (*Tamarix ramosissima* Ledeb.) Populations in Isfahan Province Using CDDP Molecular Marker

Seyed Abbas Mirjalili*

Associate Professor, Department of Plant Production, Imam Khomeini Higher Education Center, Agricultural Research, Education and Extension, Tehran, Iran
a.mirjalili@areeo.ac.ir

Mohammad Ali Ghavampour

Ph. D. of Rangeland Sciences, Department of Natural Resources and Environment, Faculty of Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
ma_ghavampour@yahoo.com

Elahe Latifi

MSc. in Plant Sciences, Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Isfahan, Iran
latifi.elaheh92@gmail.com

Elahe Poorazizi

Assistant Professor, Department of Biochemistry, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran
elahpoorazizi@gmail.com

Abstract

Tamarix species are tolerant to adverse environmental conditions and have a significant distribution in dry and salty areas. *Tamarix ramosissima* is the most widely distributed species among the *Tamarix* in Isfahan province and is mostly located in dry and desert areas. Due to the high morphological diversity of this species, the lack of population differentiation, and to investigate the diversity in the populations of this species, 55 populations from 15 cities in Isfahan province were identified, and one individual was sampled from each population. After extracting their genomes, 10 CDDP marker primers were used to investigate the genetic diversity of these plant populations. NTSYS-pc, GenAlex, and PowerMarker software were utilized for data analysis. The results showed that 102 bands (80.168%) were polymorphic among the 124 bands produced. On average, each primer created 7.85% polymorphic bands. The WRKY-F1 primer identified more gene loci than other primers by producing 16 bands. The average polymorphic information content (PIC) was calculated to be 0.308. The indicator index for each primer was, on average, 3.865. Molecular analysis of variance indicated that intra-population variation was higher than inter-population variation. Cluster analysis and PCoA revealed the existence of two separate populations and three subpopulations among them. In general, the effectiveness of the CDDP marker in differentiating the populations of *Tamarix ramosissima* and the high genetic diversity within the populations, which is a valuable trait for breeding purposes, were confirmed.

Key words: Genome extraction, polymorphism, arid areas, CDDP marker, *Tamarix*

*Corresponding author

Mir Jalili, S. A., ghavampour, M. A., Latifi, E., & Poor Azizi, E. (2023). Genetic diversity assessment of saltcedar (*tamarix ramosissima* ledeb.) populations in isfahan province using CDDP molecular marker. *Taxonomy and Biosystematics*, 14(53), 93-112.



2322-2190 © The Author(s). Published by University of Isfahan

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>).



<http://dx.doi.org/10.22108/TBJ.2023.136298.1222>



<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20088906.1401.14.53.5.0>

Introduction

The genus *Tamarix*, included in the Tamaricaceae family, is one of the most taxonomically challenging tree genera. It is not possible to separate and differentiate species within this genus using vegetative traits alone. Additionally, hybridization between species of the genus, followed by introgression, has further complicated the classification of this genus. *Tamarix* species are tolerant to adverse environmental conditions and have significant distribution in dry and salty areas. *T. ramosissima* is the most widely distributed species within this genus in Isfahan province and is predominantly found in dry and desert areas. The high morphological diversity of this species, coupled with the lack of population differentiation, has underscored the necessity of a careful study of its populations. The genetic diversity of *T. ramosissima* has not yet been studied in Iran. Furthermore, detailed information about the taxonomy, genetic structure, and population genetics of the species that grow in Iran is scarce. Therefore, this research aims to investigate the populations of this species in Isfahan province using the CDDP molecular marker.

Materials and Methods

To investigate the diversity in the populations of this species, 55 populations from 15 cities in Isfahan province were identified, with one individual sampled from each population. After extracting their genomes, 10 CDDP marker primers were utilized to examine the genetic diversity of these plant populations. For data analysis, NTSYS-pc, GenAlex, and PowerMarker software were employed. Genomic DNA was extracted from plant leaves. The quantity and quality of the extracted DNA were evaluated using a spectrophotometer at a 260 nm wavelength and through 0.8% agarose gel electrophoresis. The initial annealing step for isolating and denaturing the template DNA was set for 4 minutes at 94°C. This was followed by 35 cycles, each including an annealing step performed at 94°C for 1 minute. The PCR reaction products were visualized using electrophoresis on 1.5% agarose gel, followed by documentation with a gel documentation machine.

Research Findings

The results indicated that using 10 primers, a total of 124 bands were produced, of which 102 bands (80.168%) were polymorphic. The WRKY-F1 primer produced 16 bands, identifying more gene loci than other primers, while the WRKY-R3 primer produced the fewest, with 8 bands. The lowest and highest levels of polymorphism were associated with the primers WRKY-R3, MADS-4 (with 5 bands, 62.50%, 45.45%), and ABP1-1 (with 15 bands, 100%), respectively. On average, each primer generated 85.7% polymorphic bands. The average polymorphic information content (PIC) was calculated to be 0.308. The highest PIC value was associated with the MADS-2 primer at 0.455, while the lowest was for the KNOX-2 primer at 0.0975. The average marker index for each primer was 3.865, with the highest and lowest values being for ABP1-1 (6.664) and KNOX-2 (1.56), respectively. Molecular analysis of variance revealed that intra-population variation was higher than inter-population variation. Cluster analysis and PCoA demonstrated the existence of two distinct populations and three subpopulations among them. Mantel's test results showed the amount of genetic difference, genetic distance, and geographic distance between the populations of saltcedar, indicating no significant relationship between genetic distance and geographic distance at the 5% level.

Discussion of Results and Conclusion

In the present study, a very high level of genetic diversity was observed within the populations at each location. Considering the ecological conditions prevalent in the Isfahan region, this degree of diversity is not unexpected. Indeed, unfavorable environmental conditions and geographical isolation are factors that can lead individuals of a species to accumulate genetic changes during the process of adaptation to their environment. The efficacy of the CDDP marker in differentiating the populations of *T. ramosissima*, as well as the high genetic diversity within these populations, which is a valuable trait for breeding purposes, was confirmed. Additionally, the analysis of population similarity, as demonstrated through dendrogram construction and PCoA coordinate axis plotting, revealed that the studied populations are divided into two main groups and three subpopulations. The genotypes found in Isfahan exhibited the highest genetic diversity among the populations.

تاکسونومی و بیوسستماتیک، سال چهاردهم، شماره پنجاه و سوم، زمستان ۱۴۰۱، ص ۹۳-۱۱۲
نوع مقاله: پژوهشی

پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۲/۰۶

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۰/۱۲

ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گز پرشاخه (*Tamarix ramosissima* Ledeb.) در استان اصفهان با استفاده از نشانگر مولکولی CDDP

سید عباس میرجلیلی*، دانشیار مرکز آموزش عالی امام خمینی (ره)، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

a.mirjalili@areeo.ac.ir

محمدعلی قوام پور، دکتری تخصصی دانشکده منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

ma_ghavampour@yahoo.com

الهه لطیفی، کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور واحد اصفهان، اصفهان، ایران

latifi.elah92@gmail.com

الهه پورعزیزی، استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده مواد، واحد نجف‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف‌آباد، ایران

elahpoorazizi@gmail.com

چکیده

گونه‌های گز (*Tamarix*) در برابر شرایط نامساعد محیطی بردبارند و پراکنش شایان توجهی در مناطق خشک و شور دارند. گز پرشاخه بیشترین پراکنش را در بین گونه‌های گز موجود در استان اصفهان دارد و بیشتر در عرصه‌های خشک و بیابانی مستقر است. به دلیل وجود تنوع ریخت‌شناسی زیاد این گونه و افتراق نیافتن جمعیت‌ها و به منظور بررسی تنوع موجود در جمعیت‌های این گونه، تعداد ۵۵ جمعیت از ۱۵ شهرستان استان اصفهان شناسایی و از هر جمعیت یک فرد نمونه برداری شد. پس از استخراج ژنوم آنها، از ۱۰ آغازگر نشانگر CDDP برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های این گیاه استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، نرم‌افزارهای NTSYS-pc، GenAlex و PowerMarker به کار گرفته شد. نتایج بیانگر تولید ۱۲۴ باند بود؛ به طوری که از این تعداد، ۱۰۲ باند (۸۰/۱۶۸ درصد) به صورت چندشکلی (پلی مورف) بود. به طور متوسط هر آغازگر ۷/۸۵ درصد، باند چندشکلی ایجاد کرد. آغازگر WRKY-F1 با تولید ۱۶ باند، مکان‌های ژنی بیشتری را نسبت به سایر آغازگرها شناسایی کرد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) به میزان ۰/۳۰۸ محاسبه شد. شاخص نشانگر برای هر آغازگر به طور میانگین ۳/۸۶۵ بود. آنالیز واریانس مولکولی نشان داد تنوع درون‌جمعیتی از تنوع بین‌جمعیتی بیشتر بود. آنالیز خوشه‌ای و PCoA حاکی از وجود دو جمعیت مجزا و سه زیرجمعیت در بین آنها بود. در مجموع، مؤثر بودن نشانگر CDDP در تفکیک جمعیت‌های گز پرشاخه و زیاد بودن تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها تأیید شد که صفتی ارزشمند برای اهداف اصلاحی است.

واژه‌های کلیدی: استخراج ژنوم، چندشکلی، مناطق خشک، نشانگر CDDP، *Tamarix*.

* مسئول مکاتبات

میرجلیلی، سید عباس، قوام پور، محمدعلی، لطیفی، الهه، و پورعزیزی، الهه. (۱۴۰۱). ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گز پرشاخه (*Tamarix ramosissima* Ledeb.) در استان اصفهان با استفاده از نشانگر مولکولی CDDP. تاکسونومی و بیوسستماتیک، ۱۴ (۵۳)، ۹۳-۱۱۲.



2322-2190 © The Author(s). Published by University of Isfahan

This is an open access article under the CC BY-NC 4.0 License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>).



<http://dx.doi.org/10.22108/tbj.2023.136298.1222>



<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20088906.1401.14.53.5.0>

مقدمه

سرده *Tamarix* که در تیره گز (Tamaricaceae) از راسته میخک (Caryophyllales) قرار گرفته است (APG IV, 2016)، یکی از دشوارترین سرده‌های درختی نهان‌دانگان به لحاظ تاکسونومیکی است. تفکیک و تمایز گونه‌های این سرده با استفاده از صفات رویشی امکان‌پذیر نیست؛ علاوه بر این دوره‌سازی بین گونه‌های این سرده و به دنبال آن نفوذ (introgression) از جمله دلایلی است که رده‌بندی این جنس را با مشکل مواجه کرده است (Ijbari et al., 2015; Mayonde et al., 2014).

گونه‌های این سرده به خشکی هوا و شوری سازگارند. وجود غده‌های نمکی در برگ‌های این گیاهان و استخراج املاح از خاک و دفع آن از برگ‌ها باعث شده است این گیاهان قادر باشند در خاک‌هایی با غلظت نمک زیاد (از ۶۵۰ تا ۳۶۰۰۰ ppm) رشد کنند و بردبار باشند (Arianmanesh et al., 2015; Vonlanthen et al. 2010)؛ به طوری که گونه‌های این گیاه، طی سازش با تنش‌های محیطی مختلف مانند شوری و نوسان‌های رطوبتی، بسیار تغییرپذیر (plastic) و قادر به تحمل طیف وسیعی از تغییرات اکولوژیکی مناطقی با آب و هوای خشک و نیمه‌خشک با دسترسی به آب متغیر در طول سال هستند. انتخاب این چنین گونه‌ها و ژنوتیپ‌های بردبار، برای کمک به احیای مناطق حاشیه‌ای و امکان بازسازی محیط‌های تحت تأثیر سیلاب‌های آب شیرین و شور ناشی از تغییرات آب و هوایی، بسیار حائز اهمیت است؛ همچنین گیاهان گز آبیاری شده با فاضلاب در خاک‌های کشت‌ناپذیر رشد می‌کنند و در جایگاه منبع جدیدی برای تولید انرژی استفاده می‌شوند (Terzoli et al., 2014).

تعداد گونه‌های گزارش شده جنس *Tamarix* در ایران در منابع گیاه‌شناسی مختلف، متفاوت است؛ به نحوی که ۳۹ گونه در کتاب جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران (Sabeti, 2008)، ۳۵ گونه در فلورا ایرانیکا (Schiman-Czeika, 1964; Sheidai et al., 2019)، ۲۷ گونه در فرهنگ نام‌های گیاهان ایران (Mozaffarian, 1998) و ۲۲ گونه در فلور ایران (Assadi, 1988) بیان شده است.

کاشت گونه‌های گز نقش مهمی در جلوگیری از جنگل‌زدایی و گسترش مناطق خشک و همین‌طور ایجاد بادشکن برای تثبیت و جنگل‌کاری تپه‌های شنی در ایران دارد. این گیاه از خواص دارویی مهمی برخوردار است (Rahman et al., 2011) که به استفاده از تانن استخراج شده از گیاه (Cheng et al., 2021) در جایگاه قابض و مان‌قندی (Takavar & Mohammadi, 2008) اشاره می‌شود.

تاکنون تنوع ژنتیکی گونه *T. ramosissima* در ایران مطالعه نشده است؛ همچنین اطلاعات دقیق بسیار کمی وجود دارد درباره تاکسونومی، ساختار ژنتیکی و ژنتیک جمعیت گونه‌های گزی که در کشور ایران می‌رویند (Gaskin & Kazmer, 2009; Ijbari et al., 2014; Arianmanesh, et al., 2015; Sheidai et al., 2019).

ساختار ژنتیکی جمعیت برای درک مقدمات، بررسی انتخاب قبل از انتشار، پیش‌بینی استقرار و ارزیابی عوامل و مخاطرات محیطی پس از انتشار در کاربردهای کنترل زیستی سنتی استفاده می‌شود. در جمعیت‌های طبیعی، جریان ژنی، چندشکلی‌های (پلی مورفیسم) جدیدی را ایجاد می‌کند و اندازه جمعیت مؤثر محلی را افزایش می‌دهد؛ در نتیجه با رانش

بر اساس تک‌پرایمرهای بلند با دمای اتصال زیاد طراحی شده است که باعث افزایش تکرارپذیری آن می‌شود (Collard & Mckill, 2009).

استفاده از نشانگر CDDP برای توصیف منابع ژنتیکی، ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار و شناسایی ارقام در گونه‌های مختلف از جمله سیب‌زمینی (Poczai et al., 2011)، گل داوودی (Li et al., 2013)، گل صدتومانی (Wang et al., 2014)، گندم (Hamidi et al., 2014)، نخود (Hajibarat et al., 2015) و درخت سپستان (Latifi et al., 2018) موفقیت‌آمیز بوده است.

گونه‌های گز در استان اصفهان پراکنش چشمگیری دارند و اغلب در نواحی خشک و بیابانی استقرار یافته‌اند؛ از جمله در شرق اصفهان که با خشکسالی‌های متوالی روبه‌رو بوده است؛ همچنین در برخی نقاط نیکاه‌ها را تشکیل داده‌اند. گز پرشاخه (*Tamarix ramosissima* Ledeb.) بیشترین پراکنش را در بین سایر گونه‌های گز در استان اصفهان دارد (Ghavampour et al., 2020) و یکی از گونه‌های هدف برای ایجاد پوشش گیاهی در استان در نظر گرفته شده است؛ بنابراین این پژوهش با هدف نخستین بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گز پرشاخه (گونه‌ای که بیشترین سطح پوشش گیاهی از گونه‌های گز را در منطقه اصفهان دارد) انجام شد.

روش‌شناسی پژوهش مواد گیاهی

با توجه به نقاط پراکنندگی گز پرشاخه در فلور ایران (Assadi, 1988) و مراجعه به نقاط مختلف، در اردیبهشت و خردادماه سال ۱۳۹۷ نسبت به جمع‌آوری

ژنتیکی تصادفی مخالفت و ترکیب‌های ژنی جدیدی تولید می‌کند که انتخاب ممکن است به‌طور بالقوه روی آنها عمل کند (Mayonde et al., 2019). مطالعه و شناخت تنوع ژنتیکی، زمینه را برای اصلاح‌کنندگان گیاه به‌منظور ایجاد واریته‌هایی با صفات خاص مانند بهبود کیفیت و تحمل تنش‌های زنده و غیر زیستی تسهیل می‌کند؛ به همین دلیل پژوهش‌های متعددی درباره تنوع ژنتیکی گونه‌های گز (Gaskin & Kazmer, 2009; Vonlanthen et al., 2010; Terzoli et al., 2014; Mayonde et al., 2019; Sheidai et al., 2019; Ghavampour et al., 2020) و شیوه‌های استخراج و خالص‌سازی DNA این گیاه (Cheng et al., 2021) انجام شده است.

اندازه‌گیری سطح تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها، نخستین مرحله مهم در ارزیابی پویایی ژنتیکی یک گونه است. در سال‌های اخیر به فنون مولکولی مبتنی بر نواحی محافظت‌شده ژن از جمله نشانگر CDDP (Conserved DNA Derived Polymorphism) بیشتر توجه شده است. این نشانگر ژن‌هایی را هدف قرار می‌دهد که به‌طور مستقیم در پاسخ گیاه به تنش‌های زنده و غیر زنده درگیر هستند؛ همین‌طور به آسانی، نشانگرهایی کاربردی فراهم می‌کند که به فنوتیپ گیاه وابسته هستند (Ghavampour et al., 2020).

نشانگر CDDP، نشانگری غالب است که در آن با استفاده از نواحی بسیار حفاظت‌شده پروتئین‌ها و طراحی پرایمرهایی بر اساس این نواحی اقدام به تکثیر DNA می‌کنند. این نشانگر با آنکه به‌طور معمول دارای توالی یکسان یا بسیار مشابه است، تفاوت توزیع آنها در سراسر ژنوم، چندشکلی‌های زیادی را با اندازه‌های مختلف قابل اندازه‌گیری تولید می‌کند. این تکنیک

شد؛ سپس توسط کارشناسان گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی اصفهان و دانشگاه صنعتی اصفهان با استفاده از منابع معتبر علمی شامل فلور ایران (Assadi, 1988) و فلورا ایرانیکا - تیره گز (Schiman-Czeika, 1964) شناسایی و تنوع ژنتیکی آنها ارزیابی شد.

جمعیت‌های گز پرشاخه در شهرستان‌های مختلف استان اصفهان اقدام شد. در مجموع، ۵۵ جمعیت از این گونه در ۱۵ شهرستان استان شامل شهرستان‌های اردستان، اصفهان، نجف‌آباد، تیران، فلاورجان، حبیب‌آباد، زرین‌شهر، مبارکه، چادگان، شاهین‌شهر، گلپایگان، آران و بیدگل، فولادشهر، شهرضا و دهاقان شناسایی و از هر جمعیت یک فرد به شرح جدول ۱ جمع‌آوری

جدول ۱- فهرست نمونه‌های جمع‌آوری شده از جمعیت‌های گز پرشاخه در استان اصفهان. نمونه‌های هرباریومی در هرباریوم مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی اصفهان نگهداری می‌شود.

Table 1 - List of collected samples from the *Tamarix ramosissima* populations in Isfahan province. The herbarium samples are kept in the Herbarium of the Isfahan Agricultural Research and Education Center (SFAHAN).

نام شهرستان	کد اختصاری	تعداد جمعیت	کد هرباریومی	نام شهرستان	کد اختصاری	تعداد جمعیت	کد هرباریومی
اصفهان	ES	۸	۱۸۱۰۵	حبیب‌آباد	H	۴	۱۷۸۵۸
چادگان	Ch	۲	۱۸۱۰۶	زرین‌شهر	Z	۳	۱۸۱۰۹
تیران	T	۵	۱۸۱۰۷	نجف‌آباد	N	۷	۱۷۸۶۰
فولادشهر	Fo	۱	۱۸۱۰۷	فلاورجان	F	۵	۱۸۱۱۰
شهرضا	Sh	۱	۱۸۱۱۱	اردستان	A	۹	۱۸۱۱۲
مبارکه	Mob	۳	۱۷۸۶۱	آران و بیدگل	Ar	۲	۱۸۱۱۳
شاهین‌شهر	Sha	۲	۱۸۱۱۴	گلپایگان	Gol	۲	۱۸۱۱۶
دهاقان	Deh	۱	۱۸۱۱۵				

استخراج ژنوم

استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش (Vroh) (Bi et al, 1996) با کمی تغییرات از برگ گیاهان انجام شد. کمیت و کیفیت DNAهای استخراج‌شده با استفاده از جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر در دستگاه اسپکتوفتومتر (Shimadzu, UV-2550) و ژل آگارز ۰/۸ درصد بررسی شد. نمونه‌های DNA استخراج‌شده تا زمان استفاده در واکنش PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در این پژوهش از ۱۰ آغازگر CDDP (Collard & Mckill, 2009) (شرکت

Metabion International) برای بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مطالعه‌شده استفاده شد (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل پنج میکرولیتر مسترمیکس (1x) (شرکت Ampliqon)، ۳/۲ میکرولیتر آب دیونیزه، ۰/۸ میکرولیتر آغازگر (10x) و یک میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۲۵-۵۰ نانوگرم با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio Rad) به شرح زیر صورت گرفت: مرحله واسرشت‌سازی اولیه برای جداسازی و تک‌رشته‌ای شدن DNA الگو به مدت چهار دقیقه در

دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و سپس تعداد ۳۵ سیکل شامل مرحله واسرشت‌سازی با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای یک دقیقه، مرحله اتصال آغازگر با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای یک دقیقه، مرحله بسط آغازگر با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای دو دقیقه و در نهایت مرحله بسط نهایی آغازگر با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای پنج دقیقه.

محصولات واکنش PCR با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با دستگاه ژل‌داک (Bio Rad, Hind II) شناسایی شد.

جدول ۲- اطلاعات مربوط به آغازگرهای استفاده‌شده در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گونه گز پرشاخه

Table 2 - Information about the primers used in the study of genetic diversity of *Tamarix ramosissima* populations.

نام ژن	عملکرد ژن	نام آغازگر	توالی آغازگر (3'-5')	Tm °c	%CG
WRKY	عامل رونویسی در عملکردهای تکاملی و فیزیولوژیکی	WRKY-R2	GCC GTC GTA SGT SGT	۵۲	۶۶/۷
		WRKY-R3	GCA SGT GTG CTC GCC	۵۴	۷۳/۳
		WRKY-F1	TGG CGS AAG TAC GGC CAG	۶۱	۶۶/۷
ABP1	کدکننده پروتئین متصل‌شونده به اکسین	ABP1-1	ACS CCS ATC CAC CGC	۵۴	۷۳/۳
ERF	عامل رونویسی دخیل در مسیر مقاومت به بیماری‌ها	ERF2	GCS GAG ATC CGS GAC CC	۶۲	۷۶/۵
MYB	ناشناخته (دخیل در متابولیسم ثانویه، تنش‌های زنده و غیرزنده ریخت‌زایی سلولی)	MYB2	GGC AAG GGC TGC CGG	۵۷	۸۰/۰
KNOX	کدکننده هومئوباکس	KNOX-2	CAC TGG TGG GAG CTS CAC	۶۱	۶۶/۷
MADS	کنترل‌کننده شروع و توسعه اندام گل	MADS-1	ATG GGC CGS GGC AAG GTG C	۶۶	۷۳/۷
		MADS-2	ATG GGC CGS GGC AAG GTG G	۶۶	۷۳/۷
		MADS-4	CTS TGC GAC CGS GAG GTG	۶۳	۷۲/۲

تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی

در این پژوهش از ۱۰ آغازگر نشانگر CDDP (Conserved DNA Derived Polymorphism) برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گز پرشاخه استفاده شد. آغازگرهای CDDP به صورت ۱ (حضورداشتن نوار) و صفر (حضورنداشتن نوار) نمره‌دهی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای NTSYS-pc (Rohlf, 1998) (ver. 2.1)، GenAlex ver. 6.5 (Peakall & Smouse, 2006) و PowerMarker (ver. 3.25) (Liu & Muse, 2005) استفاده شد.

میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) با استفاده از نرم‌افزار PowerMarker (Liu & Muse, 2005) براساس رابطه (۱) به دست آمد.

$$PIC = 1 - \sum f_i^2 \quad \text{رابطه ۱}$$

در این رابطه، f_i برابر با فراوانی آلل i ام است (Botstein et al., 1980).

یافته‌های پژوهش

در این پژوهش از نشانگر CDDP برای بررسی تنوع ژنتیکی ۵۵ جمعیت گز پرشاخه استفاده شد. با استفاده از ۱۰ آغازگر در مجموع ۱۲۴ بانده تولید شد که از این تعداد ۱۰۲ بانده (۸۰/۱۶۸) به صورت چندشکلی (پلی مورف) بود. آغازگر WRKY-F1 با تولید ۱۶ بانده مکان‌های ژنی بیشتری را نسبت به سایر آغازگرها شناسایی کرد و آغازگر WRKY-R3 با تولید هشت بانده، کمترین تعداد نوار را ایجاد کرد. کمترین و بیشترین میزان چندشکلی به ترتیب مربوط به آغازگرهای WRKY-R3 و MADS-4 با پنج بانده (۶۲/۵۰ درصد، ۴۵/۴۵ درصد) و ABP1-1 با ۱۵ بانده (۱۰۰ درصد) بود. به طور متوسط هر آغازگر ۷/۸۵ درصد بانده چندشکلی ایجاد کرد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) به میزان ۰/۳۰۸ محاسبه شد که بیشترین میزان آن مربوط به آغازگر MADS-2 با مقدار ۰/۴۵۵ و کمترین آن مربوط به آغازگر KNOX-2 با مقدار ۰/۰۹۷۵ بود. میانگین شاخص نشانگر برای هر آغازگر ۳/۸۶۵ و بیشترین و کمترین میزان آن به ترتیب مربوط به آغازگر ABP1-1 (۶/۶۶۴) و KNOX-2 (۱/۵۶) بود (جدول ۳). نتایج داده‌های آزمون منتل در نرم‌افزار GenAlex نیز حاکی از میزان تفاوت ژنتیکی و فاصله ژنی و فاصله جغرافیایی بین جمعیت‌های گز پرشاخه بود؛ به نحوی که ارتباط زیادی بین فاصله ژنی و فاصله جغرافیایی در سطح پنج درصد معنی داری ($P < 0.05$) به دست نیامد (شکل‌های ۱ و ۲).

دندروگرام حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی در ۵۵ جمعیت گونه *Tamarix ramosissima* در استان اصفهان در سطح تشابه ۴۰ درصد، حاکی از این بود که

شاخص نشانگر (MI) برای کلیه آغازگرها نیز طبق رابطه (۲) محاسبه شد.

$$\text{MI} = \text{PIC} \cdot N \cdot \beta \quad \text{رابطه ۲}$$

در این رابطه، PIC محتوای اطلاعات چندشکلی، N تعداد نوارهای چندشکلی و β درصد چندشکلی برای هر آغازگر است.

برای انجام آنالیز خوشه‌ای (و ترسیم دندروگرام)، آزمون منتل برای ضرایب تشابه جاکارد، دایس (Dice) و SM (Simple Matching) مبتنی بر روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc (ver. 2.1) (Rohlf, 1998) انجام شد و براساس نتایج به دست آمده ضریب SM دارای بیشترین میزان همبستگی ($r = 0.9674$) بود؛ ولی از ضریب تشابه جاکارد برای رسم استفاده شد. به منظور استخراج بیشتر اطلاعات از داده‌های حاصل، تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) در جایگاه روش مکمل آنالیز خوشه‌ای توسط نرم‌افزار GenAlex ver. 6.5 (Peakall & Smouse, 2006) انجام شد.

آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) برای مطالعه تنوع ژنتیکی و میزان چندشکلی بین و درون جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAlex ver. 6.5 (Peakall & Smouse, 2006) انجام شد؛ همچنین تجزیه تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های گز پرشاخه با استفاده از نرم‌افزار GenAlex ver. 6.5 (Peakall & Smouse, 2006) صورت گرفت. در این ارزیابی تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، شاخص تنوع ژنتیکی نی (Nei) (H) و شاخص شانون (I) با استفاده از نرم‌افزار GenAlex ver. 6.5 (Peakall & Smouse, 2006) برای هر یک از جمعیت‌ها محاسبه شد.

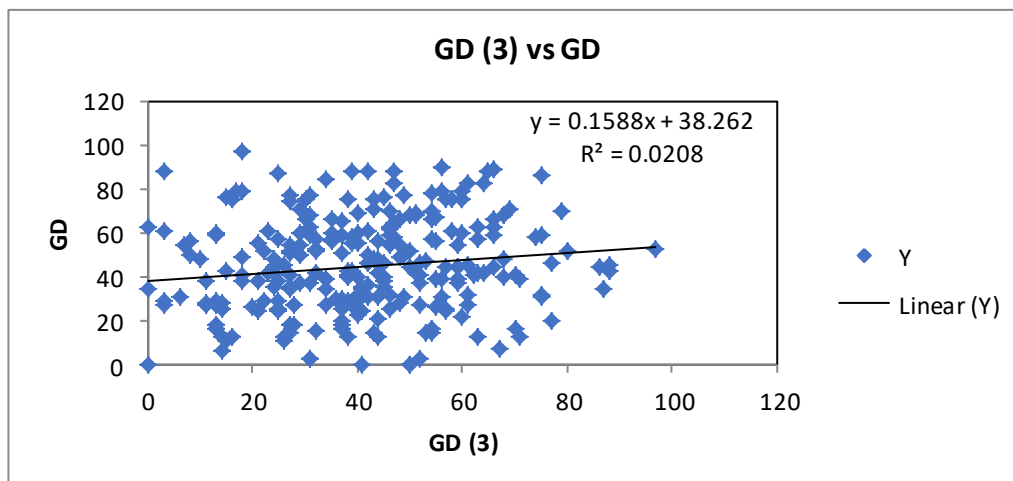
در دو گروه پنج و شش تایی تشابه صددرصدی داشتند (IAf). افراد با تشابه صددرصد با حروف IC نشان داده شده‌اند. زیرخوشه سوم (IB) هم از تعدادی افراد نه‌چندان مشابه تشکیل شده بود (شکل ۳، خوشه‌ها و زیرخوشه‌ها با علامت پیکان رنگی و حروف مشخص شده است). همان‌گونه که از نمودار شکل ۳ استنتاج می‌شود، ارتباطی بین فاصله ژنی و فاصله جغرافیایی وجود ندارد و جمعیت‌های با پراکنش جغرافیایی متفاوت در کنار هم جمع شده‌اند.

افراد گونه گز پرشاخه در دو خوشه اصلی تقسیم‌بندی شد (شکل ۳، I و II). خوشه دوم (II) متشکل از ۱۴ فرد بود که اگرچه تشابه کاملی نداشتند، در برابر افراد خوشه دوم به‌طور کامل مجزا شده بودند. خوشه اول (I) مشتمل بر سه زیرخوشه بود که دو زیرخوشه آن همگن تر و با افراد به‌طور تقریبی مشابه تشکیل شده بود (IA)؛ به نحوی که در یک زیرخوشه از ۱۴ فرد حاضر، ۱۰ فرد تشابه صددرصدی داشتند (IAd). در زیرخوشه دیگر این خوشه، ۱۷ فرد حضور داشتند که ۱۱ فرد آنها

جدول ۳- نتایج تکثیر حاصل از ۱۰ آغازگر CDDP در نمونه‌های جمعیتی گونه *Tamarix ramosissima*

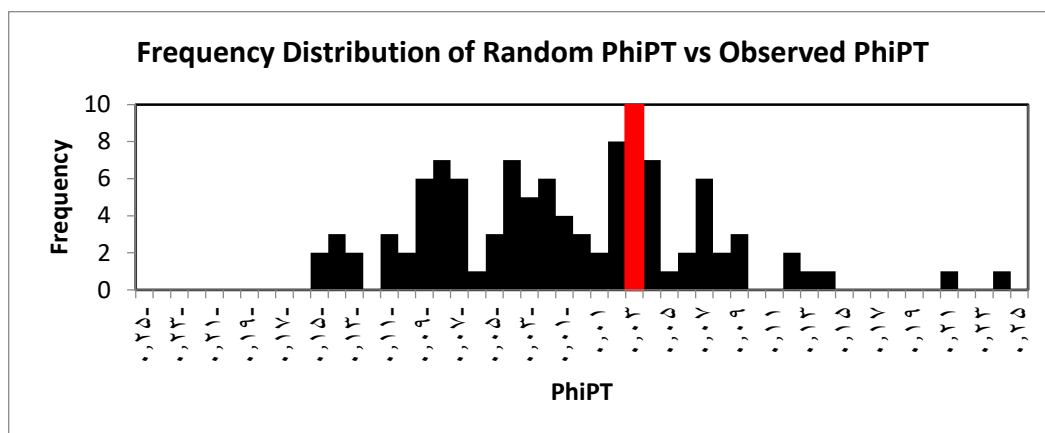
Table 3 - Results of amplification obtained from 10 CDDP primers in the population samples of the *Tamarix ramosissima*.

آغازگر	تعداد کل باند (TNB)	تعداد باندهای چندشکلی (NPB)	درصد چندشکلی (PPB%)	محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)	شاخص نشانگر (MI)	دامنه تولید باند (bp)
WRKY-R2	۹	۸	۸۸/۸۸	۰/۲۳۰۸	۲/۰۷۷۲	۱۷۰۰-۲۰۰
WRKY-R3	۸	۵	۶۲/۵۰	۰/۳۲۴۳	۲/۵۹۴۴	۱۵۰۰-۳۰۰
MADS-4	۱۱	۵	۴۵/۴۵	۰/۳۵۰۰	۳/۸۵	۱۶۰۰-۲۰۰
ABP1-1	۱۵	۱۵	۱۰۰	۰/۴۴۴۳	۶/۶۶۴۵	۱۶۰۰-۲۰۰
WRKY-F1	۱۶	۱۴	۸۷/۵۰	۰/۳۶۱۷	۵/۷۸۷۲	۱۶۰۰-۲۰۰
ERF2	۱۵	۱۳	۸۶/۶۶	۰/۲۲۹۴	۳/۴۴۱	۱۶۰۰-۲۰۰
MYB2	۱۳	۸	۶۱/۵۳	۰/۴۲۹۶	۵/۵۸۴۸	۱۶۰۰-۳۰۰
KNOX-2	۱۵	۱۴	۹۳/۳۳	۰/۰۹۷۵	۱/۵۶	۱۶۰۰-۲۰۰
MADS-1	۱۰	۹	۹۰	۰/۱۶۳۴	۱/۶۳۴	۱۵۰۰-۳۰۰
MADS-2	۱۲	۱۱	۹۱/۶۶	۰/۴۵۵۵	۵/۴۶۶	۱۵۰۰-۳۰۰
مجموع	۱۲۴	۱۰۲	-	-	-	
میانگین	۱۲/۴	۱۰/۲	۸۰/۱۶۸	۰/۳۰۸۶	۳/۸۶۵۹	



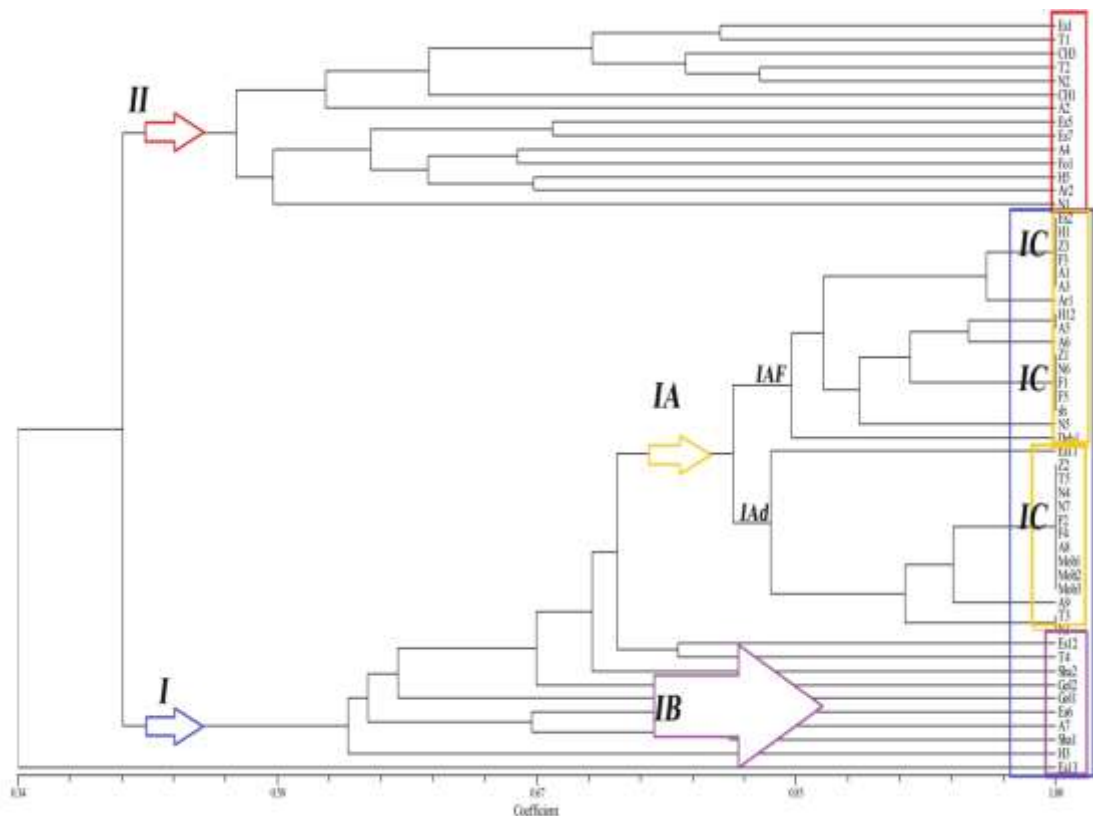
شکل ۱- نتایج آزمون منتل در نرم افزار GenAlex به منظور بررسی ارتباط بین فاصله ژنی و فاصله جغرافیایی بین جمعیت های گز پرشاخه. همان گونه که از ضریب و شیب خط استنباط می شود، ارتباط بسیار کمی بین فاصله ژنی و فاصله جغرافیایی وجود دارد.

Figure 1 - Results of Mantel's test in GenAlex software to examine the relationship between genetic distance and geographic distance among the populations of *Tamarix ramosissima*. As inferred from the coefficient and the slope of the line, there is a very weak correlation between genetic distance and geographic distance.



شکل ۲- نتایج آنالیز تفاوت ژنتیکی بین جمعیت های گز پرشاخه

Figure 2 - Results of the genetic differentiation analysis among the populations of *Tamarix ramosissima*.



شکل ۳- دندروگرام حاصل از نرم‌افزار NTSYS و ضریب تشابه Jaccard و روش UPGMA در جمعیت‌هایی از گونه *Tamarix ramosissima*
 Figure 3 - Dendrogram generated using NTSYS software, Jaccard similarity coefficient, and the UPGMA method in populations of the *Tamarix ramosissima*.

نتایج آنالیز واریانس نشان داد در مجموع، سهم تنوع درون جمعیت‌ها (۱۰۰ درصد) از تنوع بین جمعیت‌ها (صفر درصد) بیشتر است (جدول ۴).

برای بررسی دقیق‌تر ارتباط بین و درون جمعیت‌ها از روش تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) استفاده شد (شکل ۴). محورهای (مؤلفه‌های) اول و دوم به ترتیب ۳۶/۷۵ و ۵۵/۰۵ درصد واریانس کل را توجیه کردند. براساس نتایج، محورهای اصلی اول، دوم و سوم در مجموع ۶۹/۱۷ درصد کل تنوع را توجیه می‌کنند. همان‌گونه که از نتایج آنالیز مؤلفه اصلی استنتاج می‌شود، گروه‌بندی بین جمعیت‌ها منطبق با آنالیز خوشه‌ای است؛ بدین نحو که جمعیت‌ها به دو خوشه اصلی (I و II) تقسیم و یکی از خوشه‌ها به سه زیرخوشه

نتایج آنالیز واریانس نشان داد در مجموع، سهم تنوع درون جمعیت‌ها (۱۰۰ درصد) از تنوع بین جمعیت‌ها (صفر درصد) بیشتر است (جدول ۴).

برای بررسی دقیق‌تر ارتباط بین و درون جمعیت‌ها از روش تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) استفاده شد (شکل ۴). محورهای (مؤلفه‌های) اول و دوم به ترتیب ۳۶/۷۵ و ۵۵/۰۵ درصد واریانس کل را توجیه کردند. براساس نتایج، محورهای اصلی اول، دوم و سوم در مجموع ۶۹/۱۷ درصد کل تنوع را توجیه می‌کنند. همان‌گونه که از نتایج آنالیز مؤلفه اصلی استنتاج می‌شود، گروه‌بندی بین جمعیت‌ها منطبق با آنالیز خوشه‌ای است؛ بدین نحو که جمعیت‌ها به دو خوشه اصلی (I و II) تقسیم و یکی از خوشه‌ها به سه زیرخوشه

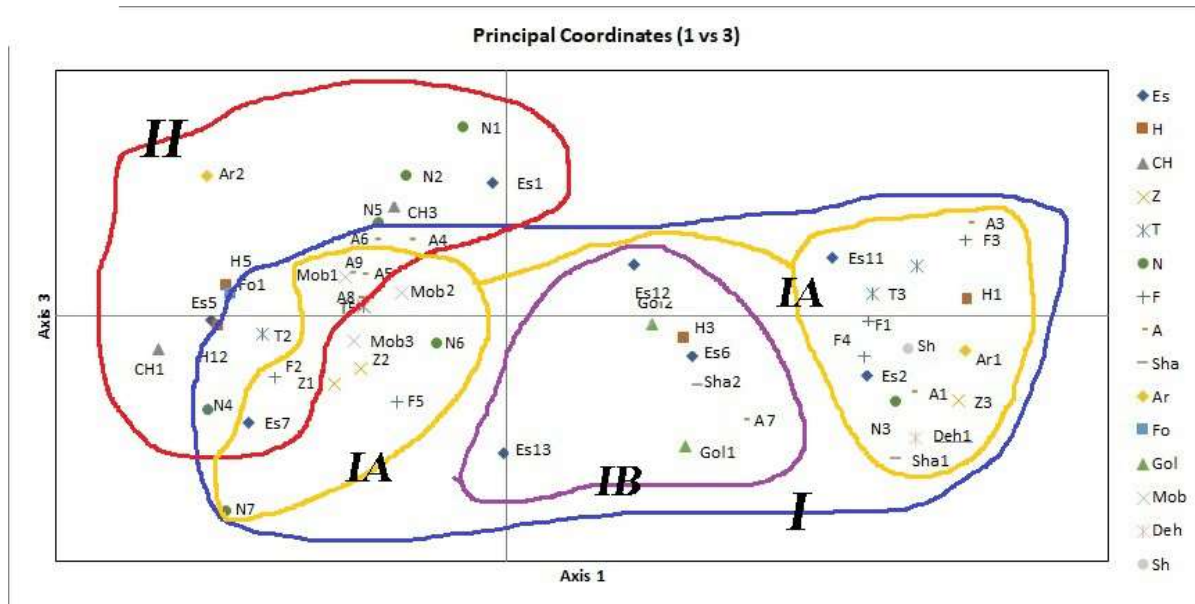
نتایج آنالیز ژنتیکی مشاهده نمی‌شود.

شاخص‌های تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های بررسی شده نیز به دست آمد. بیشترین تعداد آلل‌های مشاهده (Na) در جمعیت اصفهان (Es) با ۱/۲۷۲ و کمترین مقدار آن در جمعیت شهرضا (Sh) با ۰/۰۷۲ بود. آلل‌های مؤثر (Ne)، یعنی آلل‌هایی که فراوانی برابری دارند و دارای توزیع خوبی هستند، در جمعیت اصفهان (Es) با ۱/۲۳۰ بیشترین مقدار بود. میزان تنوع در جمعیت اصفهان (Es) با شاخص شانون (I) و شاخص نی (He) برابر با $He=0/167$ و $I=0/250$ بیش از سایر جمعیت‌ها بود. این جمعیت دارای تنوع‌پذیری و

همچنین میزان پراکندگی بیشتری نسبت به سایر جمعیت‌ها بود (جدول ۵).

جدول ۴- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌های حاصل از نشانگر مولکولی CDDP مربوط به جمعیت‌هایی از گونه *Tamarix ramosissima*
 Table 4 - Molecular Analysis of Variance (AMOVA) of data obtained from the CDDP molecular marker related to populations of the *Tamarix ramosissima*.

منابع تغییرات (Source of variation)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	اجزای واریانس (Variance components)	نسبت واریانس (درصد) (Variance ratio(%))
بین جمعیت‌ها (Among populations)	۱۱	۶۷۴,۲۳۲	۲۱/۱۵۲	۰/۰۵۰	۰
درون جمعیت‌ها (Within populations)	۴۰	۸۳۷/۷۱۰	۲۰/۹۴۳	۲۰/۹۴۳	۱۰۰
کل (Total)	۵۱	۱۰۷۰/۳۸۵	-	۲۰/۹۹۲	۱۰۰



شکل ۴- نمودار PCoA براساس تجزیه به مختصات اصلی حاصل از نرم‌افزار GenAlex در ۵۵ فرد از ۱۵ جمعیت از گونه *Tamarix ramosissima*
 Figure 4 - PCoA diagram based on Principal Coordinate Analysis from GenAlex software for 55 individuals from 15 populations of the *Tamarix ramosissima*.

جدول ۵- شاخص‌های تنوع ژنتیکی در جمعیت‌هایی از گونه *Tamarix ramosissima* در استان اصفهان

Table 5 - Genetic diversity indices in populations of the *Tamarix ramosissima* in Isfahan province.

جمعیت	N	Na	Ne	I	He
Es	۸	۱/۲۷۲	۱/۲۳۰	۰/۲۵۰	۰/۱۶۷
H	۴	۰/۶۵۶	۱/۱۴۸	۰/۱۴۹	۰/۰۹۶
CH	۲	۰/۴۰۸	۱/۱۰۲	۰/۰۸۷	۰/۰۶۰
Z	۳	۰/۱۲۸	۱/۰۲۶	۰/۰۲۰	۰/۰۱۴
T	۵	۰/۳۶۰	۱/۰۹۰	۰/۰۸۲	۰/۰۵۵
N	۷	۰/۷۲۸	۱/۱۱۷	۰/۱۳۲	۰/۰۸۲
F	۵	۰/۱۳۶	۱/۰۲۶	۰/۰۲۰	۰/۰۱۴
A	۹	۰/۷۰۴	۱/۱۰۲	۰/۱۱۵	۰/۰۷۵
Sha	۲	۰/۳۶۰	۱/۰۹۱	۰/۰۷۷	۰/۰۵۳
Ar	۲	۰/۶۴۰	۱/۱۹۸	۰/۱۶۹	۰/۱۱۶
Fo	۱	۰/۳۸۴	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
Gol	۲	۰/۲۹۶	۱/۰۷۴	۰/۰۶۳	۰/۰۴۳
Mob	۳	۰/۰۸۰	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
Deh	۱	۰/۰۸	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
Sh	۱	۰/۰۷۲	۱/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
میانگین	۲/۹۰۷	۰/۴۲۰	۱/۰۸۰	۰/۰۷۸	۰/۰۵۰

تجزیه و تحلیل یافته‌ها و تفسیر آن

گونه‌ها، واحد طبقه‌بندی بنیادی زیست‌شناسی در نظر گرفته می‌شوند و شناسایی دقیق و مؤثر گونه‌ها به‌طور معمول قبل از هر نوع پژوهشی در حوزه اکولوژی، حفاظت و کشت و پرورش نیاز است. تاکسونومی سرده *Tamarix* با ابهامات زیادی روبه‌رو است. در واقع، یافتن شیوه‌هایی خاص برای رده‌بندی این سرده دشوار است؛ به‌دلیل وجود صفات تشخیصی که به‌طور انحصاری در زمان گلدهی یافت می‌شود و همچنین برای تفسیر گمراه‌کننده این صفات که اغلب در شناسایی گونه‌ها ناکام هستند. در واقع، صفاتی که در جایگاه تشخیصی برای شناسایی گونه‌ها توصیه می‌شوند، گاهی به‌صورت تغییراتی در یک فرد جامعه با اشکال حدواسط به نمایش گذاشته می‌شوند که

شناسایی مورفولوژیکی واضح را مخدوش می‌کنند؛ بنابراین در مطالعه حاضر از صفات و نشانگرهای مولکولی برای کمک به رده‌بندی یکی از گونه‌های سرده گز (گز پرشاخه) استفاده شد. مزیت نشانگرهای مولکولی این است که از آنها برای ارزیابی تمایز در طیف گسترده‌ای از سطوح طبقه‌بندی و پاسخگویی به پرسش‌های وضعیت گونه‌ها با مقایسه تمایز بین گونه‌ها استفاده می‌شود (Terzoli et al., 2014).

در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی چشمگیری درون جمعیت‌ها مشاهده شد. هرچه میزان تنوع ژنتیکی بیشتر باشد، حاکی از پویایی گونه است و فرصت سازگاری با تغییرات محیطی را فراهم می‌کند (Meng et al., 2014). تنوع ژنتیکی نقش مهمی در شناخت خاستگاه، تولید مثل و سازگاری گونه‌ها دارد. بررسی مولکولی

گرفتن داده‌های اکولوژیکی وجود دارد. مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌های گز برای نخستین بار از دلتای رودخانه زرد گزارش شد و نتایج آن نشانگر تنوع زیادی بود (Yao et al., 2008). (Mahmood et al., 2013) نخستین کسانی بودند که تنوع ژنتیکی زیاد گونه‌های گز را در پاکستان گزارش کردند. آنها ۱۳ گونه متحمل به نمک را با نشانگرهای تصادفی چندشکلی DNA (RAPD) تجزیه و تحلیل کردند. نتایج به دست آمده از مطالعه ۲۳ ژنوتیپ گز با کمک نشانگرهای مولکولی به منظور بررسی عوامل محیطی روی گونه‌های این سرده که از سه مکان مختلف انتخاب و از ۱۴ آغازگر اختصاصی استفاده شده بود، نشان داد سطح زیادی از واگرایی ژنتیکی درون و بین گونه‌ها وجود دارد (Abdelhamid et al., 2014).

در مطالعه حاضر، تنوع ژنتیکی بسیار زیادی درون جمعیت‌های هر مکان مشاهده شد. با توجه به شرایط اکولوژیک حاکم بر منطقه اصفهان، این میزان تنوع دور از انتظار نیست. در حقیقت، شرایط نامساعد محیطی و انزوای جغرافیایی از عواملی هستند که افراد گونه‌ها در چنین شرایطی تمایل به انباشتگی تغییرات ژنتیکی در طول دوره سازگاری با محیط دارند (Ramazan et al., 2020). بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گز در کشور پاکستان نشان داد جمعیت‌های گز روئیده در سواحل رود سند در کشور پاکستان به دلیل برخورداری از رطوبت کافی و حاصلخیزی خاک، تنوع ژنتیکی کمی دارند و جمعیت‌های مستقر در نواحی خشک و بیابانی تنوع ژنتیکی بیشتری نشان دادند (Ramazan et al., 2020).

نتایج پژوهش حاضر در جمعیت‌های گز پرشاخه استان اصفهان با استفاده از ۱۰ آغازگر نشان داد از

گونه‌های گز نشان داده است که اگرچه گونه‌های مطالعه شده از نظر ژنتیکی در محدوده بومی خود متمایز هستند، در ایالات متحده دورگه‌هایی را تشکیل داده‌اند (Gaskin & Schaal, 2002). در بین انواع روش‌های بررسی تنوع ژنتیکی، نوع نشانگرهای مولکولی و همچنین آغازگر استفاده شده در بررسی تنوع ژنتیکی از اهمیت زیادی برخوردار است (Ramazan et al., 2020). نتایج به دست آمده از به کارگیری ۱۲-EST-SSR و پنج نشانگر SSR ژنومی برای سه گونه گز شامل *T. canariensis*، *T. gallica*، *T. africana* نشان داد به طور معمول EST-SSRها انتقال پذیری بیشتری نسبت به SSRهای ژنومی دارند؛ زیرا محدودیت‌های عملکردی در مناطق رونویسی شده نیز ممکن است بر جهش محل آغازگر تأثیر بگذارد؛ بنابراین تنوع کمتری مشاهده می‌شود (Woodhead et al., 2005). سه جفت آغازگر SSR ژنومی توسعه یافته در *T. ramosissima* و *T. chinensis* نتوانستند در *T. africana* تکثیر شوند؛ در حالی که قابلیت انتقال بیشتر همان نشانگرها در *T. gallica* و *T. canariensis* مشاهده شد (Terzoli et al., 2014). مطالعه جمعیت‌های گز پرشاخه در منطقه اصفهان با تأکید بر استقرار و ایجاد پوشش گیاهی در مناطق خشک و نیمه خشک بود. نتایج به دست آمده نیز تأیید کرد که نشانگر CDDP که بر پایه ژنوم‌های سازگار با شرایط نامساعد محیطی است، نشانگری کارآمد در مطالعه جمعیت‌های این گونه است.

شناخت تنوع ژنتیکی در داخل و بین جمعیت‌های گز مستقر در نقاط مختلف برای کاربردهای اصلاحی و حفاظتی مفید خواهد بود. امکان اتخاذ تصمیمات حفاظتی به سرعت، براساس تنوع ژنتیکی و بدون در نظر

تعدادی از جمعیت‌های با پراکنش متفاوت از شهرستان‌های مبارکه، زرین‌شهر، فلاورجان، نجف‌آباد، تیران و حتی اردستان در آنالیز ژنتیکی مشابه هستند و در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند.

جمعیت گروه اول (مشخص شده با رنگ بنفش و زیرخوشه IB) اگرچه در نمودار پراکنش (شکل ۴) در مرکز پلات و همچنین در پایین دندروگرام متمرکز شده، از مجموعه ژنوتیپ‌هایی تشکیل شده است که نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها شباهت کمتری به هم دارند. تفاوت ژنتیکی کم بین ژنوتیپ‌ها و قرار گرفتن آنها در یک گروه ممکن است ناشی از نزدیک بودن زمان پیدایش، مبدأ جغرافیایی یکسان، قرابت‌های ژنتیکی، خویشاوندی‌های احتمالی و داشتن اجداد مشترک باشد (Amini et al., 2008; Mahasi et al., 2009). نظر به اینکه افراد جمع شده در هر کدام از زیرخوشه‌ها، مبدأ جغرافیایی یکسانی ندارند، شاید بتوان گروه‌بندی آنها را به نزدیک بودن زمان پیدایش آنها و سرآغاز جدایی جمعیت به دلیل تشکیل زیرخوشه نسبت داد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد هیچ ارتباط جغرافیایی بین جمعیت‌های بررسی شده تصورشدنی نیست و افراد مختلف از نقاط متفاوت جغرافیایی استان اصفهان به لحاظ مطالعه مولکولی انجام شده، در کنار یکدیگر دسته‌بندی شده‌اند. بارزترین مثال آن، افرادی از جمعیت‌های منطقه اردستان در شمال استان (با حرف اختصاری A) است که در تمام خوشه‌ها و زیرخوشه‌ها خود را نشان داده‌اند.

یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها برای ارزیابی تنوع ژنی در بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌ها، شاخص تنوع ژنی نی است. برآورد شاخص Nei نشان داد میزان تنوع ژنی بین صفر تا ۰/۱۶۷ متغیر بود. وجود تنوع ژنی صفر در بین

مجموع ۱۲۴ باند تولید شده، ۱۰۲ باند (۸۰/۱۶۸ درصد) به صورت چندشکلی بود؛ همچنین به طور متوسط هر آغازگر ۷/۸۵ درصد باند چندشکل ایجاد کرد. دامنه باندهای چندشکلی و درصد چندشکلی مشاهده شده در مطالعه حاضر مشابه یافته‌های پژوهش‌های قبلی است. در پژوهش مشابهی که از دو نوع نشانگر برای آشکارسازی تنوع ژنتیکی در بین ۲۱ جمعیت گونه‌های گز استفاده شد، نتایج نشان داد هر دو نشانگر ISSR و SSR پدیده چندشکلی نشان می‌دهند. درصد پلی مورفیسم در نشانگرهای ISSR و SSR به ترتیب ۸۸/۵۰ و ۸۰/۲۸ درصد بود (Ramzan et al., 2020).

دندروگرام به دست آمده از خوشه‌بندی ۵۵ جمعیت بررسی شده نشان داد آنها در دو گروه عمده قرار دارند. گروه دوم (II) که در بخش بالایی دندروگرام مشاهده می‌شود (شکل ۳)، ۱۴ جمعیت از درختان گز پرشاخه را با منشأ جغرافیایی متفاوت دسته‌بندی کرده است که اگرچه تفاوت‌هایی با یکدیگر نشان می‌دهند، تفاوت آنها با سایر جمعیت‌های گز بسیار بیشتر بوده است. نتایج حاصل از نمودار PCoA (شکل ۴) نیز نشانگر مجزای بودن این گروه و تجمع آنها در سمت چپ نمودار است که با کادر قرمز رنگ مشخص شده است. همسان بودن نتایج آنالیز خوشه‌ای و آنالیز مؤلفه اصلی، حاکی از گروه‌بندی دقیق جمعیت‌های گز توسط نشانگر انتخابی است؛ علاوه بر این واقع شدن ژنوتیپ‌هایی با منشأ جغرافیایی متفاوت (برای مثال افرادی از اردستان، فلاورجان، زرین‌شهر و حبیب‌آباد) از همدیگر در یک زیرخوشه (IAF)، اگرچه نتایج خاصی را بیان نمی‌کند، بیانگر آن است که به طور احتمالی منشأ آنها واحد بوده است. درباره زیرخوشه دیگر (IAD) نیز همین وضع صادق است؛ در حالی که

ساختار و تنوع ژنتیکی دخیل باشد (Ebrahimi, 2022). نتایج این پژوهش نشان داد وجود تنوع ژنتیکی شدید درون جمعیت‌های گز پرشاخه ممکن است نشانگر پایه ژنتیکی قوی آنها برای سازگاری با شرایط محیطی باشد. این نوع سازش منجر به تسهیل سازگاری کوتاه‌مدت به تغییرات اقلیمی می‌شود (Jump et al., 2006). از مزایای دیگر زیادبودن تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها این است که امکان انتخاب والدین اصلاحی در برنامه‌های به‌نژادی گز پرشاخه برای صفات مناسب را فراهم می‌کند. یافته‌های پژوهش حاضر هم‌راستا و تأییدکننده سایر مطالعات انجام‌شده مشابه در سایر گونه‌ها برای بررسی تنوع ژنتیکی به لحاظ درصد تنوع درون و بین جمعیت‌ها است (Rajabi et al., 2022; Ebrahimi, 2022).

خلاصه و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد امکان استفاده از نشانگر CDDP با تولید شایان توجه باندهای چندشکلی در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گز پرشاخه وجود دارد. تنوع ژنتیکی بسیار زیادی درون جمعیت‌های این گونه آشکار شد که از جنبه‌های مختلف حائز اهمیت است؛ علاوه بر این بررسی شباهت جمعیت‌ها با رسم دندروگرام و محور مختصات PCoA نشان داد جمعیت‌های مطالعه‌شده در دو گروه اصلی دسته‌بندی و یکی از گروه‌ها به دو زیرجمعیت تقسیم شده است. ژنوتیپ‌های مستقر در اصفهان بیشترین تنوع ژنتیکی را در بین جمعیت‌ها نشان داد

جمعیت‌ها ناشی از حضور تنها یک جمعیت در آن منطقه جغرافیایی همچون دهاقان و شهرضا بوده است؛ همچنین در بین سه فرد جمع‌آوری‌شده از منطقه مبارکه، تنوع ژنی صفر به معنای مشابه‌بودن افراد است که دندروگرام نیز آنها را با تشابه صددرصد گروه‌بندی کرده است (شکل ۳). میانگین تنوع ژنی برحسب شاخص نی در پژوهش حاضر ۰/۰۵۰ بود. بررسی منابع نشان داد شاخص نی برای جمعیت‌های پرتقال ۰/۱۱ تا ۰/۴۷ با میانگین تنوع ژنتیکی ۰/۳۴ گزارش شده است (Rajabi et al., 2022). این تفاوت در میانگین شاخص بین این پژوهش و مطالعات صورت گرفته روی محصولات باغی، بیشتر ناشی از تنوع صددرصدی درون جمعیت‌های گز پرشاخه است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی بین و درون جمعیت‌ها حاصل از تجزیه ساختار جمعیت نشان داد سهم واریانس درون و بین جمعیت‌ها به ترتیب 100 و صفر درصد از واریانس کل بود. وجود تنوع ژنتیکی زیاد درون جمعیت‌ها علاوه بر اینکه نشان‌دهنده هتروزیگوسیتی زیاد آنها است، بیانگر ناهمگنی و اختلاف ژنتیکی زیاد افراد درون جمعیت از لحاظ مکان ژنی تکثیر یافته است. به‌طور کلی ناهمگنی شدید درون جمعیت ممکن است به دلایل زیادی از جمله ماهیت دگرگشتی، تلاقی مختلف بین ارقام مختلف، تعدد مکان‌های بررسی شده، موقعیت باندی و ژنوتیپی جمعیت، بزرگ‌بودن ژنوم و اندازه جمعیت باشد (Mahjoob et al., 2014). تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها به دلیل دخالت چندین عامل از جمله پیوستگی، تلاقی خویشاوندی، مهاجرت و تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده جمعیت‌ها ممکن است در پیچیدگی

References

- Abdelhamid, K., Chaâbane, R., & M'barek, B. N. (2014). Determination of the Effect of the Environment on the Genetic Polymorphism In the Genus of Tamarix Using the Molecular Marker (Simple Sequence Repeats" PCR-SSR"(In Arid Areas of the Khenchela Region (Eastern of Algeria). *Int. J. Sci. Basic Appl. Res.*, 16(2), 1-10. <https://core.ac.uk/download/pdf/249333801.pdf>
- Amini, F., Saeidi, G., & Arzani, A. (2008). Study of genetic diversity in safflower genotypes using agro-morphological traits and RAPD markers. *Euphytica*, 163, 21-30. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9556-6>
- APG IV. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of Linnean Society*, 181(1), 1-20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Arianmanesh, R., Mehregan, I., Nejadstari, T., & Assadi, M. (2015). Molecular phylogeny of Tamarix (Tamaricaceae) species from Iran based on ITS sequence data. *Eur. J. Exp. Biol*, 5(6), 44-50. <https://www.primescholars.com>
- Assadi, M. (1988). *Flora of Iran (Tamaricaceae)*. Ministry of Agriculture Forestry and Rangeland Research Institute. [In Persian].
- Bi, I. V., Harvengt, L., Chandelier, A., Mergeai, G., & Du Jardin, P. (1996). Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by the use of activated charcoal during DNA extraction. *Plant breeding*, 115(3), 205-206. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00905.x>
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32(3), 314-331. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6247908>
- Cheng, X., Hong, X., Khayatnezhad, M., & Ullah, F. (2021). Genetic diversity and comparative study of genomic DNA extraction protocols in Tamarix L. species. *Caryologia*, 74(2), 131-139. <http://digital.casalini.it/5069782>
- Collard, B. C. Y., & Mackill, D. J. (2009). Conserved DNA-derived polymorphism (CDDP): a simple and novel method for generating DNA markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27, 558-562. <https://doi.org/10.1007/s11105-009-0118-z>
- Ebrahimi, F. (2022). Allelic variation, population structure and genetic diversity in different genotypes of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) using ISSR marker. *Agricultural Biotechnology Journal*, 14(1), 135-154. 10.22103/jab.2022.18768.1368 [In Persian].
- Gaskin, J. F., & Kazmer, D. J. (2009). Introgression between invasive saltcedars (*Tamarix chinensis* and *T. ramosissima*) in the USA. *Biological invasions*, 11, 1121-1130. <https://doi.org/10.1007/s10530-008-9384-1>
- Gaskin, J. F., & Schaal, B. A. (2002). Hybrid Tamarix widespread in US invasion and undetected in native Asian range. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(17), 11256-11259. <https://doi.org/10.1073/pnas.132403299>
- Ghavampour, M. A., Mirjalili, S. A., Jafari, M., Azarnivand, H., & Javadi, S. A. (2020). Genetic diversity among populations of the Tamarix species using CDDP molecular marker. *The Iranian Journal of Botany*, 26(2), 123-133. <https://doi.org/10.22092/ijb.2020.342824.1281>
- Hajibarat, Z., Saidi, A., Hajibarat, Z., & Talebi, R. (2015). Characterization of genetic diversity in chickpea using SSR markers, start codon targeted polymorphism (SCoT) and conserved DNA-derived polymorphism (CDDP). *Physiology and molecular biology of plants*, 21, 365-373. <https://doi.org/10.1007/s12298-015-0306-2>
- Hamidi, H., Talebi, R., & Keshavarzi, F. (2014). Comparative efficiency of functional gene-based markers, start codon targeted polymorphism (SCoT) and conserved DNA-derived polymorphism (CDDP) with ISSR markers for diagnostic fingerprinting in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal research communications*, 42(4), 558-567. <https://doi.org/10.1556/crc.2014.0010>
- I Ijbari, H., Sheidai, M., Mehrabian, A. R., Noormohammadi, Z., & Ghasemzadeh-Baraki, S. (2014). K-means clustering and STRUCTURE analyses of genetic diversity in Tamarix L. accessions. *Turkish journal of botany*, 38(6), 1080-1094. <https://doi.org/10.3906/bot-1401-97>

- Jump, A. S., Hunt, J. M., & Penuelas, J. (2006). Rapid climate change-related growth decline at the southern range edge of *Fagus sylvatica*. *Global change biology*, 12(11), 2163-2174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01250.x>
- Latifi, E., Yousefi, M., & Haerinasab, M. (2018). Study of genetic diversity in some populations of *Cordia myxa* L. in Iran by using CDDP molecular marker. *Iranian Journal of Plant Biology*, 9(4), 39-54. <https://doi.org/10.22108/ijpb.2018.105760.1046> [In Persian].
- Li, T., Li, Y., Ning, H., Sun, X., & Zheng, C. (2013). Genetic diversity assessment of chrysanthemum germplasm using conserved DNA-derived polymorphism markers. *Scientia Horticulturae*, 162, 271-277. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.027>
- Liu, K., & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21(9), 2128-2129. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti282>
- Mahasi, M. J., Wachira, F. N., Pathak, R. S., & Riungu, T. C. (2009). Genetic polymorphism in exotic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) using RAPD markers. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(1), 8-12. http://www.academicjournals.org/article/article1379419363_Mahasi%20et%20al.pdf
- Mahjoob, B., Najafi, Z. H., & Hashemi, S. H. R. (2014). Assessment of genetic relationships among 36 Brassica genotypes using ISSR molecular markers. *Journal of Crop Breeding*, 6(14), 96-106. <https://www.sid.ir/paper/181153/en> [In Persian].
- Mahmood, T., Aslam, R., Rehman, S., & Naqvi, S. M. S. (2013). Molecular markers assisted genetic characterization of different salt tolerant plant species. *J Anim Plant Sci*, 23(5), 1441-1447. <http://www.thejaps.org.pk/docs/v-23-5/34.pdf>
- Mayonde, S., Cron, G. V., Glennon, K. L., & Byrne, M. J. (2019). Genetic diversity assessment of *Tamarix* in South Africa—Biocontrol and conservation implications. *South African Journal of Botany*, 121, 54-62. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.10.030>
- Mayonde, S. G., Cron, G. V., Gaskin, J. F., & Byrne, M. J. (2015). Evidence of *Tamarix* hybrids in South Africa, as inferred by nuclear ITS and plastid trnS-trnG DNA sequences. *South African Journal of Botany*, 96, 122-131. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.10.011>
- Meng, F., Peng, M., Wang, R., Wang, C., & Guan, F. (2014). Analysis of genetic diversity in *Aconitum kongboense* L. revealed by AFLP markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 57, 388-394. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.09.013>
- Mozaffarian, V. (1998). *A dictionary of Iranian plant names*. Farhang-e Moaser Publication. [In Persian].
- Peakall, R. O. D., & Smouse, P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>
- Poczai, P., Varga, I., Bell, N. E., & Hyvönen, J. (2011). Genetic diversity assessment of bittersweet (*Solanum dulcamara*, Solanaceae) germplasm using conserved DNA-derived polymorphism and intron-targeting markers. *Annals of Applied Biology*, 159(1), 141-153. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2011.00482.x>
- Rahman, M. A., Haque, E., Hasanuzzaman, M., & Shahid, I. Z. (2011). Antinociceptive, antiinflammatory and antibacterial properties of *Tamarix indica* roots. *International Journal of Pharmacology*, 7(4), 527-531. [https://www.academia.edu/download/30594036/IJP-7\(4\)-527-531.pdf](https://www.academia.edu/download/30594036/IJP-7(4)-527-531.pdf)
- Rajabi, A., Samizadeh Lahiji, H., & Mohsenzadeh Golfazani, M. (2022). Assessment of genetic diversity in *Citrus sinensis* by ISSR marker and retrotransposon. *Journal of Plant Production Research*, 29(2), 119-136. <https://doi.org/10.22069/jopp.2021.19141.2828> [In Persian].
- Ramzan, M., Sarwar, S., Kausar, N., Saba, R., Hussain, I., Shah, A. A., ... & Alwahibi, M. S. (2020). Assessment of Inter simple sequence repeat (ISSR) and simple sequence repeat (SSR) markers to reveal genetic diversity among *Tamarix* ecotypes. *Journal of King Saud University-Science*, 32(8), 3437-3446. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.10.003>

- Rohlf, F. J. (1988). *NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Exeter Publishing.
- Sabeti, H. (2008). *Forests, trees and shrubs of Iran. Fifth Edition*. Yazd University Press. [In Persian].
- Schiman-Czeika, H. (1964). Tamaricaceae. In: Rechinger, K.H. (ed.), *Flora Iranica. Akademische Druck-und Verlagsanstalt, 1964(4)*, 1-16.
- Sheidai, M., Shaghali, T., Keshavarzi, M., Kooohdar, F., & Ijbari, H. (2019). Species delimitation and inter-specific gene flow in *L.* (Tamaricaceae). *Hacquetia*, 18(2), 313-322. <https://doi.org/10.2478/hacq-2019-0001>
- Takavar, S., & Mohammadi, M. (2008). Producer, s Factors and Mechanisms of Manna in Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 7(4), 28-37. <http://jmp.ir/article-1-403-fa.html> [In Persian].
- Terzoli, S., Abbruzzese, G., Beritognolo, I., Sabatti, M., Valentini, R., & Kuzminsky, E. (2014). Genetic characterization of a *Tamarix* spp. germplasm collection in Italy. *Botany*, 92(5), 360-369. <https://doi.org/10.1139/cjb-2013-0270>
- Vonlanthen, B., Zhang, X., & Bruelheide, H. (2010). Clonal structure and genetic diversity of three desert phreatophytes. *American Journal of Botany*, 97(2), 234-242. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800329>
- Wang, X., Fan, H., Li, Y., Sun, X., Sun, X., Wang, W., & Zheng, C. (2014). Analysis of genetic relationships in tree peony of different colors using conserved DNA-derived polymorphism markers. *Scientia Horticulturae*, 175, 68-73. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.05.026>
- Woodhead, M., Russell, J., Squirrell, J., Hollingsworth, P. M., Mackenzie, K., Gibby, M., & Powell, W. (2005). Comparative analysis of population genetic structure in *Athyrium distentifolium* (Pteridophyta) using AFLPs and SSRs from anonymous and transcribed gene regions. *Molecular ecology*, 14(6), 1681-1695. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02543.x>
- Yao, H., Zhao, Y., Chen, D. F., Chen, J. K., & Zhou, T. S. (2008). ISSR primer screening and preliminary evaluation of genetic diversity in wild populations of *Gycyrrhiza uralensis*. *Biologia Plantarum*, 52, 117-120. <https://doi.org/10.1007/s10535-008-0022-7>

