

# آنالیز تنوع ژنتیکی موجود در خزانه محلی ژرم پلاسما نیشکر خوزستان با استفاده از نشانگر RAPD

احلام نبهانی<sup>۱</sup>، مهدی سلطانی حویزه\*<sup>۲</sup> و مسعود پرویزی آلمانی<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۲. عضو هیئت علمی، گروه ژنتیک و بهنجاری گیاهی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۳. گروه بهنجاری، موسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۸

## چکیده

به منظور آنالیز تنوع ژنتیکی موجود در خزانه محلی ژرم پلاسما نیشکر استان خوزستان با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD تعداد ۴۸ ژنوتیپ از این خزانه تهیه شد. استخراج DNA از برگ‌ها، با استفاده از روش SDS پتاسیم استات انجام گردید و کیفیت و کمیت آن به ترتیب با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتوفتومتر (UV-Vis Camspec M350 Spectrophotometer) ارزیابی شد. در ادامه چرخه های PCR بر اساس نوع آغازگر تعیین شدند. ۲۰ پرایمر در این مرحله مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.10 انجام گرفت. برای تعیین میزان تشابه بین جمعیت‌ها، از ضریب جاکارد استفاده شد و با استفاده از الگوریتم UPGMA یک دندروگرام بر مبنای ماتریس تشابه تهیه شد. با انجام PCR تعداد ۵۴ قطعه DNA تکثیر شده قابل ارزیابی در نمونه‌ها بدست آمد که ۵۳ باند، معادل ۹۸ درصد باندها چند شکل بودند. بیشترین تعداد باند مربوط به پرایمرهای OPM16 با ۵ باند و OPM17، OPM36، OPM24، OPA02 با ۴ باند بود. همه پرایمرها به جزء پرایمر OPM27 صددرصد پلی مورفیسم را نشان دادند که بیانگر تنوع بالای نمونه‌های نیشکر می‌باشد. بر اساس تجزیه کلاستر و قطع دندروگرام در ضریب تشابه (۵۹٪) ژنوتیپ‌های نیشکر به پنج بخش تقسیم گردیدند. که از این پنج بخش، چهار بخش تنها شامل یک ژنوتیپ بودند و ۴۵ ژنوتیپ دیگر در یک گروه قرار گرفتند. از این رو نتایج بدست آمده به انتخاب والدین با فاصله ژنتیکی بیشتر جهت تلاقی‌های موفق‌تر و دست‌یافتن به تنوع ژنتیکی بالاتر کمک خواهد نمود.

واژه‌های کلیدی: ژرم پلاسما، پلی مورفیسم، ژنوتیپ، پی سی آر

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۶۳۰۵۰۸۰۳، پست الکترونیکی: [soltani.m@iauhvaz.ac.ir](mailto:soltani.m@iauhvaz.ac.ir)

## مقدمه

جهانی شکر ما را مجبور به تلاش جهت به دست آوردن محصول بیشتر در واحد سطح می‌نماید. لذا تحقیقاتی به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و پیدا کردن روابط تبارشناختی بین بعضی از ارقام جدید و قدیم و وارداتی با نیشکرهایی که در حال حاضر در ایران اصلاح می‌شوند باید صورت گیرد و سازگارترین آنها با شرایط منطقه و

نیشکر با نام علمی *Saccharum officinarum* L. از تیره گندمیان و بومی مناطق معتدل گرم تا مناطق حاره است. از محصولات مهم درجهان است که بخش قابل توجهی از قند مصرفی کشور را تأمین می‌کند [۲]، کاهش قیمت

درصد چندشکلی به وجود آمد [۱۷]. کرمی و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی روابط ژنتیکی رقم‌های ایرانی و خارجی نیشکر با استفاده از ۶۵ نشانگر مولکولی RAPD پرداختند. نتایج نشان داد که تفاوت ژنتیکی بین رقم‌های داخل هر ناحیه بیشتر از تفاوت ژنتیکی رقم‌های بین هر ناحیه بود [۶]. در مطالعه‌ای دیگر با استفاده از ۱۰ نشانگر RAPD، تنوع ژنتیکی ۱۶ ژنوتیپ کلزا در پاکستان را مورد بررسی قرار داده و بیان کردند که نشانگرهای کاربردی بخوبی توانسته‌اند ژنوتیپ‌ها را در گروه‌های مجزا قرار دهند [۱۶]. ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسما یک گونه زراعی در طرح‌های به نژادی و در حفاظت از منابع ژنتیکی کاربرد دارد. در یک بررسی گریل کایولا و همکاران (۲۰۰۴) از نشانگر RAPD برای ارایه نوار اختصاصی گونه‌های بامبو (*Bambusa tulda* و *Bambusa balacooa*) استفاده کردند [۵]. از این رو هدف از این تحقیق آنالیز ژنتیکی تنوع موجود در خزانه محلی ژرم پلاسما نیشکر استان خوزستان با استفاده از نشانگر RAPD و شناسایی ژنوتیپ‌های مناسب جهت برنامه‌های تلاقی‌های آینده می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۴۸ نمونه برگگی از ژنوتیپ‌های موجود در خزانه محلی ژرم پلاسما نیشکر (استان خوزستان واقع در موسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان (اهواز) تهیه شد. برای هر ژنوتیپ ۵ برگ از کلون مربوطه جدا و باهم پولد شدند. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در جدول زیر آورده شده است (جدول ۱).

برگزیدن بهترین کلون‌ها از نظر میزان درصد قند و عملکرد در واحد سطح انجام گیرد [۱۷، ۱۹]. آگاهی دقیق از تنوع ژنتیکی مجموعه‌های ژنتیکی گیاهی ضمن حفظ ذخایر ژنتیکی گیاهی، قابلیت استفاده از آنها را در برنامه‌های اصلاحی تامین می‌کند. همچنین کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی نسبی بین افراد و جمعیت‌ها و روابط خویشاوندی بین آنها، امکان سازماندهی ژرم پلاسما و تهیه جمعیت‌های مناسب برای ترسیم نقشه‌ی ژنتیکی و مکان یابی ژن‌ها را فراهم می‌سازد [۸]. در این راستا، نشانگرهای مولکولی بطور موفقیت آمیز در ارزیابی تنوع ژنتیکی انواع گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در سال‌های گذشته پیشرفت‌های تکنولوژیکی در تکنیک‌های DNA امکان طبقه بندی ارقام و ژنوتیپ‌ها را فراهم ساخته است [۳، ۹، ۱۱، ۱۲]. مطالعات نشان می‌دهد که روش RAPD ابزار مناسبی در جهت تشخیص تنوع گونه‌ها برای استفاده در برنامه‌های اصلاح گونه‌ها ارائه می‌دهد [۱، ۴، ۱۰، ۱۵، ۱۸]. در روش RAPD از آغازگرهای کوتاه و تصادفی که معمولا از ۱۰ و یا تعداد بیشتری نوکلئوتید تشکیل شده است، استفاده می‌شود. این آغازگرها به طور تصادفی به نقاط مختلف ژنوم اتصال یافته و چندین مکان ژنی را تکثیر می‌کنند [۷]. شوشتری و همکاران (۲۰۱۵) به مطالعه ارتباط نشانگر RAPD با صفات مورفولوژی در شرایط مزرعه و کشت هیدروپونیک در شش واریته تجاری و امیدبخش نیشکر پرداختند که نتایج نشان داد از ۶۵ آغازگر مورد استفاده تنها ۳۰ آغازگر در بین ارقام، پلی مورف بودند و ۳۸۳ باند تشکیل گردید. تعداد نوارهای چندشکل (پلی‌مورف) ۲۵۶ عدد و تعداد نوارهای تک شکل (مونومورف) ۱۲۷ عدد بودند که در مجموع ۶۸/۸۴

جدول ۱- ژنوتیپ‌های نیشکر مورد مطالعه در این تحقیق به همراه منشأ آنها.

Table 1- The sugarcane genotypes studied in this research and their origin.

ژنوتیپ	منشاء	ژنوتیپ	منشاء	ژنوتیپ	منشاء	ژنوتیپ	منشاء
۱ FGO5221	CIRAD	۱۳ CP04-1935	USA	۲۵ Kn87-12	Sudan	۳۷ IRC00-14	Iran-Cuba
۲ C86-12	Cuba	۱۴ BJ97-01	Barbados	۲۶ N55-805	-	۳۸ G68-88	Florida
۳ Co-853	Cuba	۱۵ C85-102	Cuba	۲۷ JA64-19	Cuba	۳۹ N30	South Africa
۴ CP48-103	Florida	۱۶ FGO 3104	CIRAD	۲۸ Tco6747	-	۴۰ IRC00-31	Iran-Cuba
۵ C86-503	Cuba	۱۷ L61-67	Florida	۲۹ IRC99-06	Iran-Cuba	۴۱ CP57-614	Florida
۶ CP50-28	Florida	۱۸ TUC68-19	Brazil	۳۰ IRC99-0	Iran-Cuba	۴۲ IRC00-12	Iran-Cuba
۷ IRC00-17	Iran-Cuba	۱۹ FGO 6-659	CIRAD	۳۱ CL35-76	Cuba	۴۳ DB95-26	Florida
۸ FGO 5387	CIRAD	۲۰ BROO-01	Romana	۳۲ FR92-394	CIRAD	۴۴ Nco-376	South Africa
۹ TRITON	Australia	۲۱ C88-356	Cuba	۳۳ IRC00-15	Iran-Cuba	۴۵ IRC99-01	Iran-Cuba
۱۰ SP71-6113	Brazil	۲۲ Q 85	Australia	۳۴ C86-165	Cuba	۴۶ DB94-404	Guyana
۱۱ Nco-334	South Africa	۲۳ Kn88-43	Sudan	۳۵ Co-740	India	۴۷ Co-824	Cuba
۱۲ CPO 41566	USA	۲۴ BRO 4005	Romana	۳۶ CoLK-8001	India	۴۸ GLORIA58	-

اساس نوع آغازگر تعیین شد که شامل ۳ دقیقه پیش‌واسرشت در دمای ۹۲ درجه سانتیگراد، ۴۴ سیکل شامل ۱ دقیقه واسرشت در دمای ۹۲ درجه سانتی‌گراد، ۱ دقیقه اتصال پرایمر و ۲ دقیقه مرحله تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت ۱۰ دقیقه تکثیر انتهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. آغازگرهای مورد استفاده در جدول ۲ آورده شده است.

جهت استخراج DNA، ابتدا نمونه‌های برگ‌ها با استفاده از نیتروژن مایع پودر شدند. سپس استخراج DNA از برگ‌ها، با استفاده از روش SDS پتاسیم استات انجام شد [۲۱]. کیفیت DNA به دست آمده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد و کمیت نیز با استفاده از اسپکتوفتومتر (UV-Vis Camspec M350 Spectrophotometer) ارزیابی شد. چرخه‌های PCR بر

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR به همراه توالی و دمای ذوب هر کدام.

Table 2- The primers used in PCR reaction and their sequence and melting temperature.

ردیف	ID	توالی	Tm (C°)
۱	Opm4	5'-CCGCATCTAC-3'	32
۲	Opm5	5'-GATCACCGCC -3'	34
۳	Opm8	5'-TGGACCGGTG -3'	34
۴	Opm15	5'-GACGGATCAG -3'	32
۵	Opm16	5'-CACACTCCAG -3'	32
۶	Opm17	5'-TTCCCCCAG -3'	34
۷	Opm20	5'-ACTTCGCCAA -3'	32
۸	Opm21	5'-GGTCGGAGAA -3'	32
۹	Opm27	5'-CTGCATCGTG -3'	32
۱۰	Opm29	5'- TGTAGGTGGG-3'	32
۱۱	Opm33	5'-GTCGCCGTCA -3'	34
۱۲	Opm35	5'-TGAGCGGACA -3'	32
۱۳	Opm36	5'-ACCTGAACGG -3'	32
۱۴	Opm37	5'- TTGGCACGCG-3'	34
۱۵	Opa08	5'-GTGACGTAGG -3'	32
۱۶	Opm35	5'-GTGACATGCC -3'	32
۱۷	Opm42	5'-CACCGTATCC -3'	32
۱۸	Opm48	5'-GAGAGCCAAC -3'	32
۱۹	Opm55	5'-AATGGCGCAG -3'	32
۲۰	Opa-02	5'-TGCCGAGCTG -3'	32

با انجام PCR تعداد ۵۴ قطعه DNA تکثیر شده قابل ارزیابی در نمونه‌ها بدست آمد که ۵۳ باند، معادل ۹۸٪ باندها چند شکل بودند. بیشترین تعداد باند مربوط به پرایمرهای OPM16 با ۵ باند و OPm17، OPM36، OPM24 و OPA02 با ۴ باند بود. همه پرایمرها به جزء پرایمر OPM27 صددرصد پلی‌مورفیسم را نشان دادند که بیانگر تنوع بالای نمونه‌های نیشکر می‌باشد.

آنالیز آماری داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار NTSYS2.2 انجام گرفت. برای تعیین میزان تشابه بین جمعیت‌ها، از ضریب جاکارد استفاده شد و با استفاده از الگوریتم UPGMA یک دندروگرام بر مبنای ماتریس تشابه تهیه شد.

## نتایج

جدول ۳- تعداد باندهای تشکیل شده و درصد پلی‌مورفیسم

Table 3- Number of bands formed and percentage of polymorphism

پلی مورفیسم	درصد پلی مورفیسم	تعداد باندهای تشکیل شده	تعداد باندهای پلی مورفیسم	پرایمر	ردیف
100	2	2	2	opm4	1
100	3	3	3	opm5	2
100	2	2	2	opm8	3
100	2	2	2	opm15	4
100	5	5	5	opm16	5
100	4	4	4	opm17	6
100	2	2	2	opm20	7
100	3	3	3	opm21	8
0	0	1	1	opm27	9
100	2	2	2	opm29	10
100	2	2	2	opm33	11
100	1	1	1	opm35	12
100	4	4	4	opm36	13
100	3	3	3	opm37	14
100	4	4	4	opm42	15
100	2	2	2	opm48	16
100	3	3	3	opm55	17
100	4	4	4	OPA-02	18
100	2	2	2	OPA-08	19
100	3	3	3	OPE-04	20

گشت که حاکی از تفاوت این ژنوتیپ با سایر ژنوتیپ‌ها می‌باشد. براساس تجزیه کلاستر و قطع دندروگرام در ضریب تشابه (۰/۵۹) ژنوتیپ‌های نیشکر به ۵ بخش تقسیم گردیدند. که از این پنج بخش، چهار بخش تنها شامل یک ژنوتیپ بودند و ۴۴ ژنوتیپ دیگر در یک گروه قرار گرفتند، چهار ژنوتیپ عبارت بودند از Co-824، N30، CP041566 و COLK-8001 و سایر ژنوتیپ‌ها در گروه مجزایی قرار گرفتند.

نمونه ایی از باندهای به دست آمده از برخی پرایمرهای مورد بررسی در شکل ۱ آمده است. این پرایمرها عبارت- اند از OPM16 با ۵ باند، OPM21 با ۳ باند، OPM27 با ۱ باند، OPM29 با ۲ باند، OPM37 با ۳ باند، OPM42 با ۴ باند، OPE04 با ۳ باند. ضریب کوفتتیککی بین ماتریس تشابه و دندروگرام در حد  $r=0/78$  بدست آمد که نمایانگر برازش مناسب دندروگرام به ماتریس تشابه بوده است. CO-824 در حد تشابه ۰/۵۱ از سایر ژنوتیپ‌ها جدا



شکل ۱- الگوی نواری ژنوتیپ‌های نیشکر با استفاده از آغازگر OPM21 در ژل آگارز

Figure 1- Strip pattern of sugarcane genotypes using OPM21 primer in agarose gel

## بحث و نتیجه‌گیری

مقدار چند شکلی (۹۸٪) بدست آمده در این آزمایش نسبت به گیاهان دیگر بالاتر می‌باشد، در همین رابطه فلک‌رو و همکاران (۲۰۲۰) در گیاه چای با استفاده از ۲۴ نشانگر RAPD، ۲۱۹ نوار تکثیر شد که ۸۱/۲۸ درصد آنها حالت چندشکلی نشان دادند [۴]. شوشتری و همکاران (۲۰۱۵) نتایج نشان داد که از ۶۵ آغازگر مورد استفاده ۳۰ آغازگر در بین ارقام نیشکر، پلی مورف بودند [۱۷]. طایی آقدایی و همکاران (۲۰۰۷) میزان پلی مورفیسم را در ۱۲ جمعیت گل محمدی با استفاده از نشانگر RAPD، ۶۷ درصد گزارش نمودند که نسبت به نتایج این آزمایش، چند شکلی کمتری را بدست آوردند [۲۰].

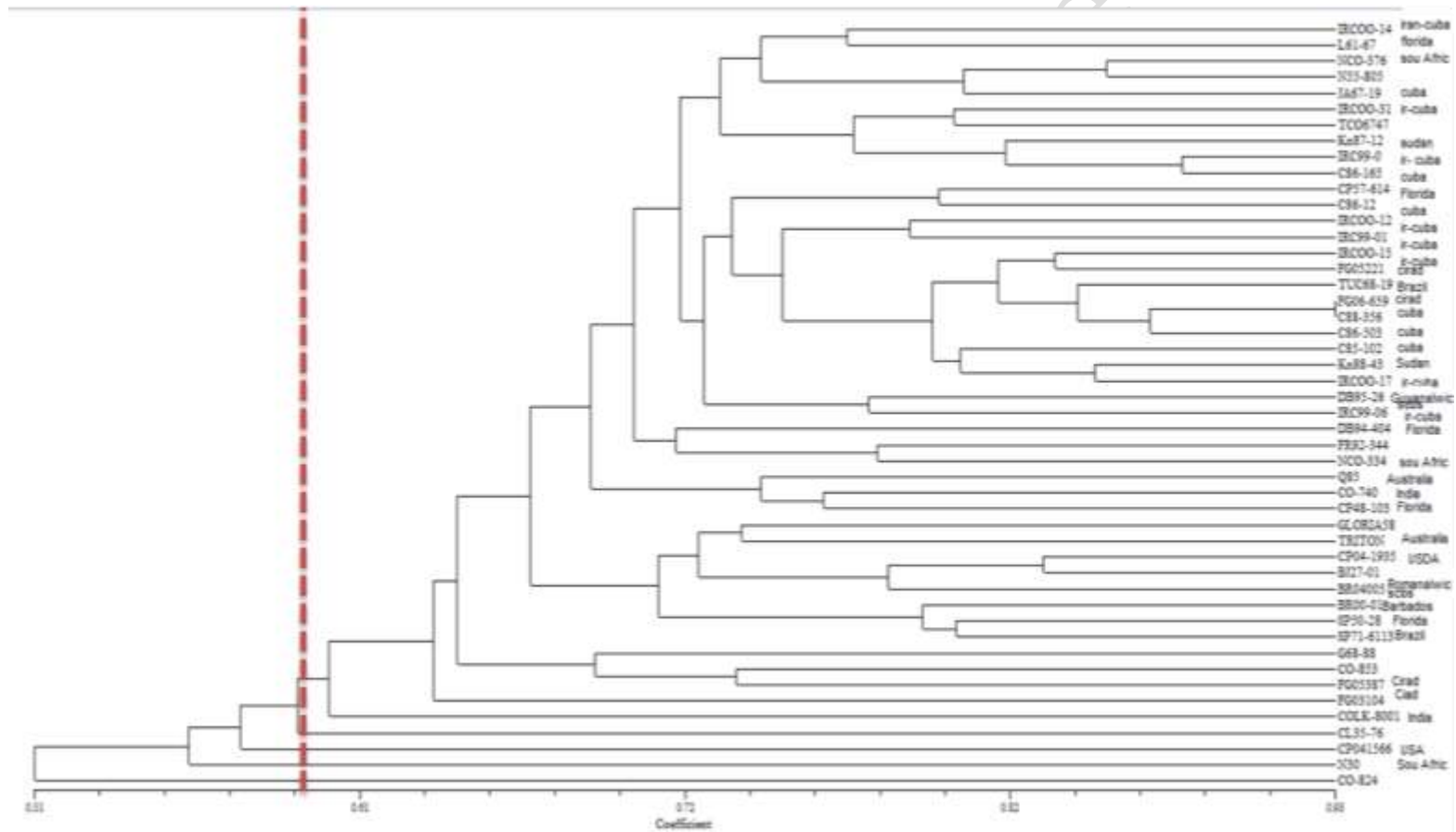
بخش‌هایی از دندروگرام حاصل، بیانگر آن است که تنوع مولکولی نمونه‌های نیشکر مورد بررسی با منشأ جغرافیایی آنها در برخی موارد مطابقت داشته و در برخی موارد مطابقت نداشته است. بطور مثال ژنوتیپ‌های Kn87-12 و Kn88-43 با وجود منشأ یکسان (سودان) دور از هم قرار گرفتند و این موضوع به چند دلیل می‌تواند باشد: طولانی نبودن انتخاب بر اساس شرایط مختلف محیطی که بتواند منجر به ایجاد تفاوت در ژرم پلاسم شود و همچنین توانایی ژن‌هایی که باعث سازگاری به یک محیط می‌شوند و در ایجاد سازش به چند محیط نقش دارند. در مطالعات انجام شده در گیاهان متفاوت، وجود تنوع بالا در جمعیت‌های مختلف و همچنین عدم ارتباط بین تنوع جغرافیایی و مولکولی گزارش شده است در همین رابطه اسپینگ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش دادند که با مطالعه روی گونه‌های کلزا بومی و زراعی ارقامی که بعضاً نام‌های مشابه داشتند و انتظار می‌رفت که از نظر ژنتیکی در کنار هم قرار گیرند، در کلاستر بندی در گروه‌های مختلف قرار گرفتند [۱۴]. بر اساس نتایج، با توجه به اینکه میزان تشابه از بالا (۹۳٪) به پایین (۵۱٪) کلاستر کاهش می‌یابد، لذا ارقام دورتر با داشتن

چندشکلی بالا تفاوت بیشتری از نظر مولکولی خواهند داشت و از طرف دیگر امکان دورگ‌گیری بین ارقام با بیشترین تفاوت ژنتیکی، امکان انتقال صفات نادر را خواهد داشت. بنابراین انجام تلاقی بین ارقام والدینی دورتر کارایی بیشتری خواهد داشت. لذا بر اساس اطلاعات حاصل از کلاستر داده‌های نشانگر ریپد و میزان تشابه آنها بر اساس جدول ماتریس تشابه، تلاقی بین افراد موجود در یک گروه بهتر است صورت نگیرد چرا که شباهت بیشتری با هم دارند.

بطور کلی از این تحقیق مشخص گردید که با انجام PCR تعداد ۵۴ قطعه DNA تکثیر شده قابل ارزیابی در نمونه‌ها بدست آمد که ۵۳ باند، معادل ۹۸٪ باندها چند شکل بودند. بیشترین تعداد باند مربوط به پرایمرهای OPM16 با ۵ باند و OPM17، OPM36، OPM24 و OPA02 با ۴ باند بود. همه پرایمرها به جزء پرایمر OPM27 صددرصد پلی مورفیسم را نشان دادند که بیانگر تنوع بالای نمونه‌های نیشکر می‌باشد. بر اساس تجزیه کلاستر و قطع دندروگرام در ضریب تشابه (۵۹٪) ژنوتیپ‌های نیشکر به پنج بخش تقسیم گردیدند. که از این پنج بخش، چهار بخش تنها شامل یک ژنوتیپ بودند و ۴۴ ژنوتیپ دیگر در یک گروه قرار گرفتند، چهار ژنوتیپ عبارت بودند از Co-824، N30، CP041566 و COLK-8001 و سایر ژنوتیپ‌ها در گروه مجزایی قرار گرفتند. از این رو نتایج بدست آمده به انتخاب والدین با فاصله ژنتیکی بیشتر جهت تلاقی‌های موفق‌تر کمک خواهد نمود.

## سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از موسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی استان خوزستان بابت در اختیار قرار دادن مواد ژنتیکی از خزانه محلی ژرم پلاسم نیشکر تشکر و قدرانی نمایند.



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های نیشکر بر اساس داده‌های نشانگر رپید

Figure2- Cluster analysis of sugarcane genotypes based on rapid marker data

## منابع

- Anandan, R., Prakash, M., Deenadhayalan, T., Nivetha, R. and Kumar, N.S. 2018. Efficient in vitro plant regeneration from cotyledon-derived callus cultures of sesame (*Sesamum indicum* L.) and genetic analysis of True-to-Type regenerants using RAPD and SSR markers. *South African Journal of Botany*, 119:244-251.
- Argani, M. Serajiyan, M.R. and Homayoni, S. 2009. Sub-pixel detection of urban area changes by spectral composition analysis. *14(2):113-130*, (In Persian).
- Beyene, Y., Botha, A. and Myburg, A. 2005. comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize. *African Journal of Biotechnology*, 4(7): 586-596.
- Falakro, K., jahangirzadeh, khiavi, S., Gholami, M. and Pour Azizan, S. 2022. 'RAPD markers, instruments for determining the genetic relationships of tea plant in Iran'. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 35(1), pp. 42-54. (In Persian)
- Grilli Caiola, M., Caputo, P. and Zanier, R. 2004. RAPD Analysis in *Crocus sativus* L. Accessions and Related Crocus Species. *Biologia Plantarum*. 48:375-380.
- Karami, S., Shoshtari, M., Maleki, B. and Shiran, B. 2010. Genetic relationships of Iranian and foreign sugarcane cultivars using SSR and RAPD molecular markers. *Iranian Biology Jurnal*, 23(30): 353-366.
- Khosroshahi, L., Haghjoo, A. and Davoodi, P. 2013. Investigation of crop rotation and sugarcane planting systems in Khuzestan. *Water and Soil Knowledge Sci, Technol* 26(2):109-120. (In Persian)
- Manifesto, M., Schlatter, A.R., Hopp, H.E., Suarez, E. and Dubcovsky, J. 2005. Quantitative evaluation of genetic diversity in wheat germplasm using molecular markers. *Crop Science*, 41(3):682-690.
- Minaeifar, A. A. 2023. 'Morphological and genetic diversity of *Aspergillus niger* population, Using ISSR marker'. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 36(2):195-209. (In Persian)
- Naghavi, M., Gharehyazi, B. and Hoseinisalkdeh, g.h. 2005. *Molecular Marker*. Tehran Univ. Press, 404p. (In Persian)
- NOORIAN, M. and shirvani, H. 2020. 'Genetic variability of *Malva neglecta* ecotype using ISSR molecular markers', *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 32(4):984-994. (In Persian)
- Rameshkumar, R., Pandian, S., Rathinapriya, P., Selvi, C.T., Satish, L., Gowrishankar, S., Leung, D.W. and Ramesh, M. 2019. Genetic diversity and phylogenetic relationship of *Nilgiranthus ciliatus* populations using ISSR and RAPD markers: Implications for conservation of an endemic and vulnerable medicinal plant. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14(3): 101-117.
- Sadat, S., Hoveize, M.S., Mojadam, M. and Marashi, S.K. 2013. Somaclonal variation and the study of its isozyme electrophoretic pattern in sugarcane variety NCO310. *African Journal of Agricultural Research*, 8(46):5814-5820.
- Schengwu, H.U., Ovesna, J., Kucera, L., Kucera, V. and Vyvadilova, M.

2004. Evaluation of genetic diversity of Brassica napus germplasm from China and Europe assessed by RAPD markers. *Plant Soil and Environment*, 49(3):106-113.
15. Shahid, A., Iqbal, M., Muhammad, A., Ijaz, A., Aqib, I., Mushtaq, A. and Zahoor, A.S. 2011. Characterization of Brassica napus germplasm based on molecular markers. *African Journal of Biotechnology*, 10 (1)6: 3035-3039.
16. Sharma, V., Seth, P., Khandelwal, S.K, Joshi, A., Jain, D. and Rajpurohit, D. 2018. RAPD Analysis of Mustard (*Brassica juncea* L.) Genotypes Differing in Response to Water Stress. *The Journal of Plant Science Research*, 34(1): 107-113.
17. Shoshtari, M., Shiran, B. and Siyadat, S. 2015. Study of Genetic Diversity of the Most Important Cane Cultivars in Iran Using RAPD Molecular Marker. *Journal of Plant Production*, 33(1): 75-68. (In Persian)
18. Soltani Hoveyzeh, M., MirMohammadi, S. and Arzani, A. 2008. Correlation of morphophysiological traits with dry weight yield of commercial and promising sugarcane cultivars under salinity stress at the beginning of vegetative growth stage. *Crop Physiology*, 1(2): 26-33. (In Persian).
19. Soltani Huwyzeh, M., Mirmohammady Maibody, S. and Arzani, A. 2008. Evaluation of Salt Tolerance of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Genotypes Based on the Ability to Regulate Ion Uptake and Transport at Early Stage of Growth. *JWSS*, 11 (42): 56-66. (In Persian).
20. Tabaei-Aghdai, S.R., Khosh-Khui, M., Omidbaigi, R., Naghavi, M.R., Esselink, G.D and Smulders, M.J. 2007. Microsatellite analysis of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) accessions from various regions in Iran reveals multiple genotypes. *BMC Plant Biology*, 7:1.12.
21. Yeates, C. and Gilling, M. R. 1998. Rapid purification of DNA from soil for molecular biodiversity analysis. *Lett. Appl. Microbiol*, 27: 49-53.

## Analysis of genetic diversity in the local treasury of sugarcane germplasm in Khuzestan province using RAPD marker

Ahlan Nabhani<sup>1</sup>, Mehdi Soltani Howyeh<sup>2\*</sup>, Masoud Parvizi Almani

1. M.Sc. Student, Department of Genetics and Plant Breeding, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
2. Faculty member, Department of Genetics and Plant Breeding, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Biotechnology, Cane Development and Sidelong Industrial Research and Education Institute, Khuzestan, Ahvaz, Iran.

### Abstract

This study was performed to analyze the genetic diversity of sugarcane germplasm in Khuzestan province using the RAPD marker at Islamic Azad University, Ahvaz Branch, Iran. The sample size was 48 genotypes from the sugarcane germplasm of Khuzestan province. DNA extraction from leaves was performed using the potassium acetate SDS method. DNA quality test was done with electrophoresis (Agarose gel 1%) and DNA quantity was determined by spectrophotometer (Model: UV-Vis Camspec M350). Sixteen primers were selected for PCR and statistical analysis was performed by the NTSYS software. The Jaccard coefficient was used to determine the similarity of populations and the similarity matrix obtained by the UPGMA algorithm. After PCR, 54 fragments were amplified; among them, 53 bands (98%) were polymorph. OPM16 showed the highest band number (5 bands) and OPM36, OPM24 and OPA02 showed 4 bands. All primers showed 100% polymorphism except OPM27. According to cluster analysis, genotypes are divided into 4 groups. Three groups included a genotype and one group included 45 genotypes.

**Keywords:** Germplasm, Polymorphism, Genotype, PCR