

بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های کرچک (*Ricinus communis* L.)

با استفاده از نشانگر ISSR

سارا شریفی سلطانی^۱، غلامعلی رنجبر^{۱*}، سید کمال کاظمی تبار^۱، علی پاکدین پاریزی^۲ و حمید نجفی زرینی^۱

^۱ ایران، ساری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، دانشکده علوم زراعی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی گیاهی

^۲ ایران، ساری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان



تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۰۷

چکیده

کرچک (*Ricinus communis* L.) یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی در جهان است. تعیین تنوع ژنتیکی گیاهان از جمله کرچک، نقش مهمی در شناسایی ژنوتیپ‌های برتر بمنظور بهره‌برداری در برنامه‌های اصلاح نباتات دارد، بدین منظور تنوع و ارتباط ژنتیکی ۲۲ اکوتیپ کرچک مورد بررسی قرار گرفت. از ۲۶ نشانگر مورد استفاده، ۱۹ نشانگر که بیشترین تعداد نوارهای چند-شکلی را تولید کردند، مورد استفاده قرار گرفت. این تعداد نشانگر در مجموع ۱۸۸ نوار تولید کردند که ۱۸۰ نوار چندشکل (۹۵/۵۸ درصد) بودند. براساس تجزیه خوشه‌ای، اکوتیپ‌ها در دو گروه قرار گرفتند. بیشترین شباهت بین اکوتیپ‌های ۴ و ۵ (جمع‌آوری شده از ساری) و کمترین شباهت بین اکوتیپ‌های ۱ و ۱۴ (ساری و بابلسر) مشاهده گردید. بیشترین شاخص تنوع ژنتیکی نی (H) و شاخص شانون (I) در گروه ۲ که شامل ۱۲ اکوتیپ بود، مشاهده شد. در بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها با- استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE اکوتیپ‌ها به دو خوشه‌ی زیرجمعیتی تقسیم شدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که ۳۷ درصد از تغییرات ژنتیکی مربوط به تنوع بین اکوتیپ‌ها و ۶۳ درصد مربوط به درون اکوتیپ‌های کرچک می- باشد که می‌توان از آن در برنامه‌های به‌نژادی این گیاه استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای، ساختار جمعیت، نشانگر ISSR.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱۳۳۲۱۱۱۶۳، پست الکترونیکی: ali.ranjbar@gmail.com

مقدمه

منابع ژنتیکی و ایجاد واریته‌های جدید کرچک بسیار مهم می‌باشد، در گذشته مطالعات تنوع ژنتیکی در بسیاری از گیاهان و جانوران تنها برپایه خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی استوار بوده است (۱۰). همه واریته‌های کرچک دارای عدد کروموزومی $2n=20$ هستند (۴۷). تنوع بسیار زیادی در این گیاه به جز وجود سم ریسین در تمامی صفات موفولوژیکی، با وجود یکنواخت بودن وجود دارد، تنوع موجود در کرچک نقش بسیار مهمی در تولید واریته-های مطلوب دارد. اصلاح‌گران برای تولید واریته‌های جدید با ارزش بالای اقتصادی و مقاوم در برابر انواع تنش-

کرچک (*Ricinus communis* L.) متعلق به تیره فرفیون (Euphorbiaceae) است که در مناطق گرمسیری رشد می‌کند این تیره دارای گونه‌های بسیار زیادی است که اغلب آن‌ها بومی مناطق گرمسیری از منطقه غرب آفریقا و هند می- باشند (۲۵). گیاه کرچک در ایران، بیشتر در حاشیه مزارع کشت می‌گردد (۳) و متحمل به خشکی می‌باشد (۴۷). کرچک یکی از گیاهان روغنی غیرخوراکی می‌باشد که بدلیل عملکرد و تولید بالا و همچنین رشد در مناطق حاشیه‌ای و اقلیم خشک و نیمه خشک مورد توجه قرار گرفته است (۸). تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی جهت توسعه

و AFLP تنوع ژنتیکی بالایی در ژرم پلاسماهای مورد مطالعه گزارش شد (۲۹). در مطالعه‌ای دیگر که برای بررسی تنوع ژنتیکی ۴۱ ژنوتیپ کرچک متعلق به ۳۵ کشور مختلف با - استفاده از نشانگرهای SSR و AFLP انجام شد، تنوع ژنتیکی پایین و همچنین عدم مطابقت بین الگوی گروه‌بندی براساس داده‌های مولکولی با الگوی توزیع جغرافیایی ژنوتیپ‌ها گزارش شد که می‌تواند در نتیجه اصلاح ژنوتیپ‌ها، اهلی‌سازی یا تکثیر طولانی مدت تعداد کمی ژنوتیپ و یا استفاده از ژنوتیپ‌هایی باشد که تنوع موجود در آن‌ها نماینده تنوع درون گونه نیست، باشد (۶). در مطالعه‌ای که به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۲ ژنوتیپ کرچک در گجرات هندوستان با استفاده از نشانگرهای RAPD و ISSR انجام گرفت، تنوع ژنتیکی وسیعی در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گزارش گردید (۹). مطالعات متعدد دیگر (۷، ۵۰ و ۱۵) نیز سطح بالایی از چندشکلی را در بین ژنوتیپ‌های مختلف کرچک نشان داده‌اند. پژوهشی که به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۹ ژنوتیپ کرچک با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD در دامغان به اجرا در آمد نشان داد که نشانگر رپید می‌تواند توده‌های کرچک را به گروه‌های مختلف تقسیم کند و همچنین می‌توان با - استفاده از میزان درصد تشابه ژنتیکی بین اکوتیپ‌های کرچک، اکوتیپ‌های با فاصله ژنتیکی بیشتر را به منظور تولید بذرها هیبرید با هتروزیس مناسب به کار برد (۲). جهت شناسایی نشانگرهای ISSR پیوسته با ژنهای کنترل - کننده ۲۶ صفت مورفولوژیک در ۱۲ اکوتیپ کرچک در دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه از ۱۶ نشانگر ISSR استفاده و نتایج نشان دهنده سطح تقریباً بالایی از چندشکلی (۶۸/۸۵) در بین اکوتیپ‌های مختلف کرچک بود (۱). از آنجایی که کشور ایران یکی از مهمترین مراکز تنوع و پراکنش گیاه کرچک می‌باشد و همچنین ارزیابی تنوع ژنتیکی جهت استفاده از آن در برنامه‌های اصلاحی کرچک یک ضرورت محسوب می‌شود بنابراین هدف از این پژوهش بررسی مقایسه‌ای تنوع ژنتیکی بین اکوتیپ -

ها از تنوع ژنتیکی بالای این گیاه استفاده می‌نمایند (۳۹). شناخت تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی نه تنها باعث حفاظت ذخایر ژنتیکی می‌شود بلکه قابلیت کاربرد آنها را در برنامه‌های اصلاحی فراهم می‌سازد (۲۳). چندین نشانگر ژنتیکی از جمله AFLP، RAPD، SSR، و ISSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در میان ژنوتیپ‌ها وجود دارد (۲۱). ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان دلایل متعددی دارد، از جمله می‌توان به حمایت درست و دقیق از تنوع ژنتیکی گیاهان (۱۳)، شناسایی و حفظ و نگهداری ذخایر توارثی در بانک‌های ژن (۴۹)، برنامه‌های به‌زادی (۲۲) و انتخاب صحیح والد‌های برتر جهت تلاقی (۴۲) اشاره نمود. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی روش‌های متفاوتی وجود دارد که می‌توان به AFLP، RAPD، SSR، و ISSR اشاره نمود. نشانگرهای مولکولی ISSR (Inter simple sequence repeat) به دلیل چندشکلی و تغییرپذیری بسیار بالا، توانایی تکثیر و تکرارپذیری بالا، قیمت نسبتاً ارزان و فراوانی زیاد در ژنوم گیاهان، یکی از مهم‌ترین نشانگرهای مولکولی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی می‌باشند (۳۲). تنوع ژنتیکی در گیاه کرچک با استفاده از نشانگرهای غالب و هم‌بارز توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (۳۳ و ۴۴). نشانگرهای متعددی مانند بین ریزماهواره‌ای (ISSR) (۱۷)، پلی‌مورفیسم طولی قطعات تکثیر شده (AFLP) (۳۱)، توالی‌های تکراری ساده (SSR) (۳۶). ریف‌های تظاهر یافته برچسب‌دار - توالی‌های تکراری ساده (EST-SSR) (۱۸) و (۴۶) و چندشکلی ریزماهواره تکثیرشونده تصادفی (RAMP) در ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاه کرچک مورد استفاده قرار گرفت (۱۲). در پژوهشی که بر روی تنوع ژنتیکی ۵۴ اکوتیپ گیاه کرچک که از کشورهای مختلف (چین، هند، فرانسه و اردن) جمع آوری شده بود با استفاده از نشانگرهای ISSR و RAPD صورت گرفت نتایج پژوهش بیانگر موثر بودن این نشانگرها در تمایز جمعیت - های مورد مطالعه است (۲۰). با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۸۲ ژنوتیپ کرچک در مکزیک با استفاده از نشانگرهای SSR

های جمع‌آوری شده از نقاط مختلف کرچک با استفاده از نشانگرهای ISSR می‌باشد.

مواد و روشها

مواد گیاهی: بذور نمونه‌های گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل ۱۸ اکوتیپ جمع‌آوری شده از شهرهای مختلف ایران، ۳ اکوتیپ موتانت (موتاسیون فیزیکی و شیمیایی) و ۱ اکوتیپ از کشور عراق است (جدول-۱).

جدول ۱- نام و محل جمع‌آوری نمونه‌های مورد بررسی

شماره اکوتیپ	منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	شماره اکوتیپ	منطقه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
۱	ساری (جاده جویبار)	۴۷° ۲۸'	۳۳° ۳۰'	۱۲	ساری-فیروزکنده	۵۳° ۰۷'	۳۶° ۶۰'
۲	ساری (جاده نکا)	۵۳° ۱۵'	۳۶° ۳۲'	۱۳	بابلسر (بهنمیر)	۵۳° ۷۰'	۳۶° ۵۶'
۳	ساری (سورک)	۵۳° ۰۸'	۳۶° ۲۴'	۱۴	بابل (بیجی کلا)	۵۲° ۱۸'	۳۶° ۱۹'
۴	ساری (کردخیل)	۵۲° ۵۳'	۳۶° ۱۷'	۱۵	نجف آباد (اصفهان)	۵۱° ۳۲'	۳۲° ۶۱'
۵	ساری (دانشگاه علوم کشاورزی ساری)	۵۳° ۰۹'	۳۶° ۵۸'	۱۶	زابل	۶۱° ۴۷'	۳۱° ۰۳'
۶	ساری (کیاده)	۵۳° ۲۶'	۳۶° ۱۰'	۱۷	عراق-کربلا	۴۴° ۰۳'	۳۳° ۲۲'
۷	ساری (خزر)	۵۳° ۰۴'	۳۶° ۰۶'	۱۸	خرم آباد	۴۸° ۲۹'	۳۳° ۴۲'
۸	ساری (صاحبی)	۵۳° ۲۱'	۳۶° ۱۷'	۱۹	بردسیر	۵۶° ۵۷'	۲۹° ۹۱'
۹	اصفهان (شهرضا)	۳۲° ۵۱'	۳۲° ۱۷'	۲۰	فیروزکنده-التراسوند	-	-
۱۰	ساری (آکند)	۵۳° ۰۷'	۳۶° ۶۳'	۲۱	فیروزکنده-EMS 25	-	-
۱۱	ساری (ماهروزمحل)	۵۳° ۰۹'	۳۶° ۲۷'	۲۲	فیروزکنده-EMS 50	-	-

شد (جدول ۲). کلیه آغازگرهای مورد استفاده از شرکت آراین ژن گستر تهیه شدند.

واکنش تکثیر DNA ژنومی در حجم ۱۲ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم DNA الگو، پرایمر ۱۰ میکرومول، Master Mix (۶ میکرولیتر)، H₂O (۳/۲۵ میکرولیتر) انجام گرفت. برای انجام واکنش‌ها از بافر Master Mix شرکت سیناکلون استفاده گردید. برای واکنش PCR برنامه دمایی به صورت، واسرشته سازی اولیه (به مدت ۲:۳۰ دقیقه در دمای ۹۴°C) و ۳۵ سیکل (۴۰ ثانیه در دمای ۹۴°C، ۱ دقیقه در دمای ۶۰°C - ۵۰ بسته به دمای آغازگر، ۱:۲۰ دقیقه در دمای ۷۲°C) و مرحله بسط نهایی (۷ دقیقه در دمای ۷۲°C) تنظیم گردید و پس از پایان آزمایش، نمونه‌ها در دمای ۴°C نگهداری شدند.

در مطالعه حاضر، بذرها در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری کشت گردید و در مرحله سه برگی، نمونه‌های برگ‌های تازه و جوان جمع‌آوری شد. استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Murry and Thompson, 1984) با اندکی تغییرات انجام گردید. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش اسپکتروفوتومتری (Spectrophotometry) به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (SHIMADZU UV-1800) ساخت ژاپن و برای بررسی کیفیت DNA استخراج شده از ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام شد. در این تحقیق از تعداد ۲۶ آغازگر مخصوص واکنش ISSR که در پژوهش‌هایی که بر روی گیاه کرچک که توسط (۱، ۱۵، ۱۶) انجام شده بود و همچنین تعدادی از این آغازگرها در آزمایشگاه ژنومیکس پژوهشکده ژنتیک و فناوری طبرستان موجود بود، استفاده

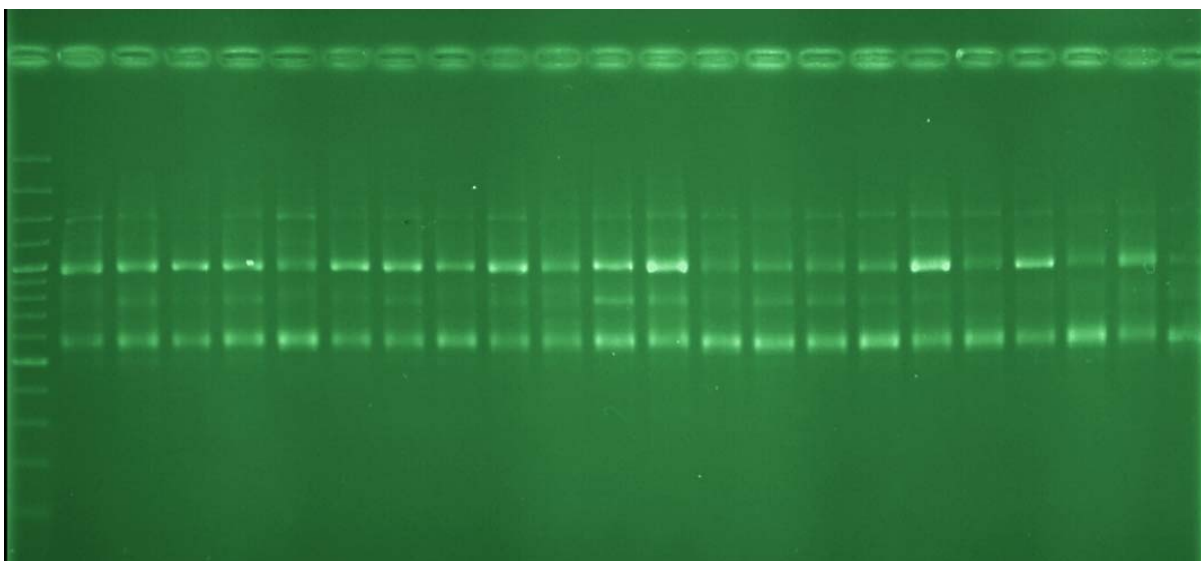
برای تعیین کارایی آغازگرها در بروز چندشکلی، شاخص نشانگری (MI) و نسبت چندگانه موثر (EMR) محاسبه شد. آغازگر ISSR-36 با $EMR=19$ بیشترین میزان و آغازگر ISSR-2 با $EMR=3.75$ کمترین میزان را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). میزان MI بین ۰/۶۴ و ۶/۴۶ متغیر بود. آغازگرهای ISSR-36 و ISSR-9 به ترتیب بیشترین شاخص نشانگری (MI) را داشتند که کارایی بالای این آغازگرها را در بروز چندشکلی نشان می‌دهد.

براساس نتایج بدست آمده ضریب تشابه جاکارد براساس روش خوشه‌بندی UPGMA دارای بالاترین ضریب همبستگی کوفتیک (۰/۹۲) بود که نشان‌دهنده برازش خوب و همبستگی بالا بین ماتریس‌های تشابه و دندروگرام نهایی براساس ضریب جاکارد می‌باشد (جدول ۴).

بیشترین شباهت ژنتیکی (۰/۷۷) بین اکوتیپ‌های ۴ و ۵ و کمترین شباهت ژنتیکی (۰/۲۴) بین اکوتیپ‌های ۱ و ۱۴ مشاهده شد (جدول ۵). نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که ۳۷ درصد از تغییرات مربوط به بین جمعیت‌ها و ۶۳ درصد مربوط به درون جمعیت‌ها بود (جدول ۶).

باندهای امتیازدهی از ۶ تا ۱۹ باند متغیر بود. از بین آغازگرهای مورد استفاده، بیشترین تعداد باندهای چندشکلی به ترتیب متعلق به آغازگرهای ISSR-9 و ISSR-19 با تعداد باند ۱۸ و ۱۹، کمترین تعداد باند چندشکلی نیز آغازگر ISSR-1 با تعداد ۶ باند اختصاص یافت. به‌طور متوسط هر آغازگر ۹/۸۹ باند تولید نمود. میانگین تعداد باندهای چندشکلی برای هر آغازگر ۹/۴۷ برآورد شد. در این مطالعه به دلیل استفاده از ۲۲ اکوتیپ از مناطق مختلف، مشاهده چندشکلی بالا دور از انتظار نبود. درصد چندشکلی برای هر آغازگر ۷۱/۴۲ درصد برای آغازگر ISSR-2 تا ۱۰۰ درصد برای آغازگرهای ISSR1-3-8-13-15 و غیره متغیر بود و مقدار متوسط آن ۹۵/۵۸ درصد بود که تنوع ژنتیکی بالای ژنوتیپ‌ها را توجیه می‌کند (جدول ۳).

در این مطالعه، بیشترین و کمترین میزان PIC بترتیب برابر با ۴۳/۰۱۸ و ۴۳/۰۱۸ مربوط به آغازگرهای ISSR-43 و ISSR-2 بود. بالا بودن میزان PIC در بعضی از آغازگرهای مورد استفاده نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگرها و تمایز اکوتیپ‌های مورد مطالعه در این تحقیق می‌باشد که نشان‌دهنده سودمندی این آغازگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های کرچک می‌باشد (جدول ۳).



شکل ۱- الگوی تکثیر DNA ژنومی توسط آغازگر ISSR-2

جدول ۳- تعداد کل باندها، تعداد باندهای چندشکل، تعداد باندهای مونومورف، درصد چندشکلی، محتوای اطلاعات چندشکلی، نسبت چندگانه موثر، شاخص نشانگر و شاخص قدرت تفکیک برای هر آغازگر

نام آغازگر	تعداد کل باندها	تعداد باند چند-شکل	تعداد باندهای مونومورف	درصد چندشکلی (Pol)	محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)	نسبت چندگانه موثر (EMR)	شاخص نشانگر (MI)	شاخص قدرت تفکیک (RP)
ISSR-1	۶	۶	۰	۱۰۰	۰/۲۲	۶	۱/۳۲	۷/۸۱
ISSR-2	۷	۵	۲	۷۱/۴۲	۰/۱۸	۳/۵۷	۰/۶۴	۷/۷۲
ISSR-3	۷	۷	۰	۱۰۰	۰/۳۹	۷	۲/۷۳	۶/۸۱
ISSR-8	۷	۷	۰	۱۰۰	۰/۴۰	۷	۲/۸	۶/۵۴
ISSR-9	۱۸	۱۷	۱	۹۴/۴۴	۰/۳۴	۱۶/۰۵	۵/۴۵	۱۵/۹۰
ISSR-11	۱۳	۱۱	۲	۸۴/۶۱	۰/۲۷	۹/۳۰	۲/۵۱	۱۳
ISSR-13	۱۴	۱۴	۰	۱۰۰	۰/۳۴	۱۴	۴/۷۶	۸/۸۱
ISSR-15	۱۴	۱۴	۰	۱۰۰	۰/۳۴	۱۴	۴/۷۶	۸/۸۱
ISSR-17	۷	۶	۱	۸۵/۷۱	۰/۲۶	۵/۱۴	۱/۳۳	۴/۴۵
ISSR-19	۱۱	۱۱	۰	۱۰۰	۰/۲۸	۱۱	۳/۰۸	۱۰
ISSR-24	۱۰	۸	۲	۸۰	۰/۳۰	۶/۴	۱/۳۸	۱۰/۶۳
ISSR-29	۱۰	۱۰	۰	۱۰۰	۰/۴۱	۱۰	۴/۱	۷/۶۳
ISSR-30	۸	۸	۰	۱۰۰	۰/۳۴	۸	۲/۷۲	۹/۹۰
ISSR-32	۱۲	۱۲	۰	۱۰۰	۰/۳۵	۱۲	۴/۲	۷/۹۰
ISSR-36	۱۹	۱۹	۰	۱۰۰	۰/۳۴	۱۹	۶/۴۶	۱۴/۸۱
ISSR-37	۱۱	۱۱	۰	۱۰۰	۰/۴۰	۱۱	۴/۴	۱۲/۵۴
ISSR-39	۱۳	۱۳	۰	۱۰۰	۰/۳۹	۱۳	۵/۰۷	۱۱/۶۳
ISSR-41	۷	۷	۰	۱۰۰	۰/۳۴	۷	۲/۳۸	۸/۹۰
ISSR-43	۸	۸	۰	۱۰۰	۰/۴۳	۸	۳/۴۴	۹/۰۹

جدول ۴- همبستگی بین ضرایب تشابه بدست آمده با روش‌های مختلف براساس نشانگرهای مولکولی ISSR

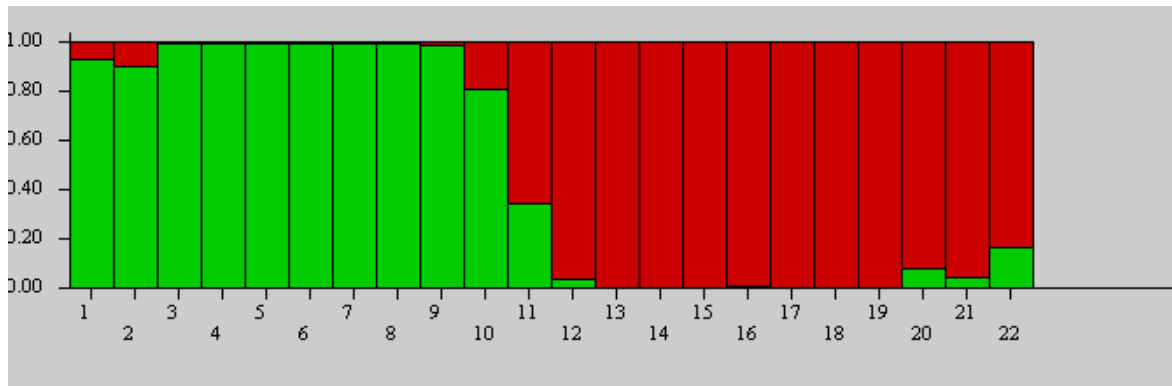
	الگوریتم UPGMA	الگوریتم اتصال ساده	الگوریتم اتصال کامل
ضریب تشابه جاکارد	۰/۹۲	۰/۹۱	۰/۹۱
ضریب تشابه دایس	۰/۹۰	۰/۸۹	۰/۸۹
ضریب تشابه تطابق ساده	۰/۹۱	۰/۹۰	۰/۸۸

جدول ۶- آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌های حاصل از نشانگر مولکولی ISSR مربوط به ۲۲ اکوتیپ کرچک

منابع تنوع	درجه آزادی	میانگین مربع‌ها	انحراف معیار	درصد تنوع
بین جمعیتی	۲	۱۲۱	۱۴/۱۴	٪۳۷
درون جمعیتی	۱۹	۲۴/۰۷	۲۴/۰۷	٪۶۳
کل	۲۱	۱۴۵/۰۷	۳۸/۲۲	٪۱۰۰

مطالعه شناسایی شده است که در آن هر زیرجمعیت با یک رنگ خاص نشان داده شده است (محور عمودی بیانگر درصد عضویت افراد و محور افقی بیانگر اکوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد) (شکل ۲).

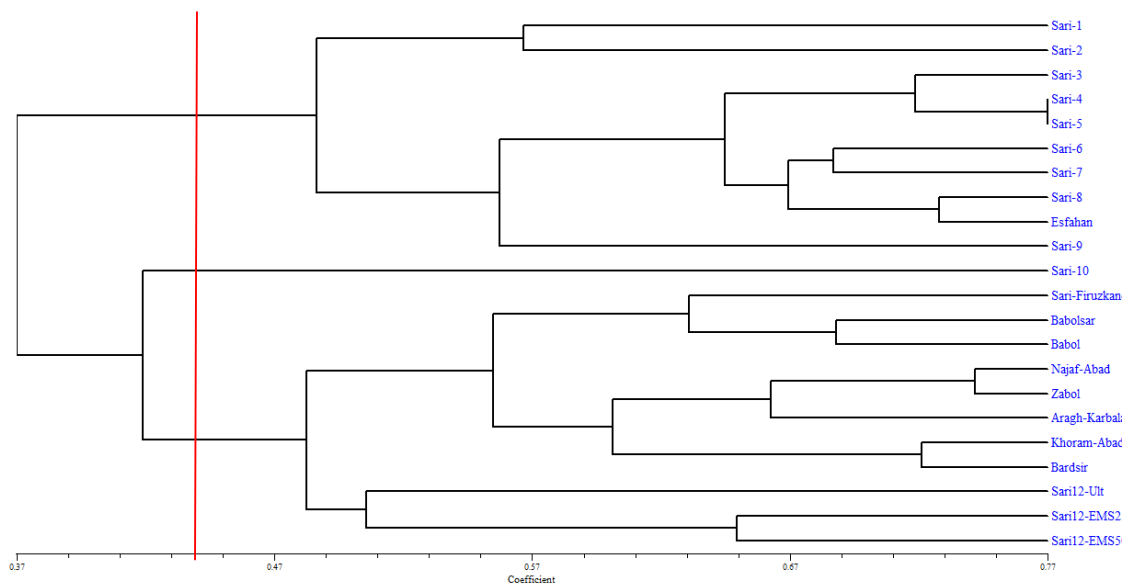
به‌منظور تایید و صحت گروه‌بندی از تجزیه ساختار ژنتیکی براساس روش بی‌زین با استفاده از نرم‌افزار Structure استفاده شد، بدست آوردن K بهینه با استفاده از روش Δk نشان داد که مقدار عددی این پارامتر برای $K=2$ حداکثر بود بنابراین می‌توان گفت دو زیر جمعیت احتمالی در توده‌های مورد



شکل ۲- نتایج گراف شده از آنالیز Structure جهت تعیین خویشاوندی اکوتیپ‌های مورد بررسی براساس نشانگر ISSR

گروه اول شامل اکوتیپ‌های ۱-۲-۳-۴-۵-۶-۷-۸-۹ و در گروه دوم فقط اکوتیپ شماره ۱۰ گروه سوم شامل اکوتیپ‌های ۱۱-۱۲-۱۳-۱۴-۱۵-۱۶-۱۷-۱۸-۱۹-۲۰-۲۱ می‌باشند.

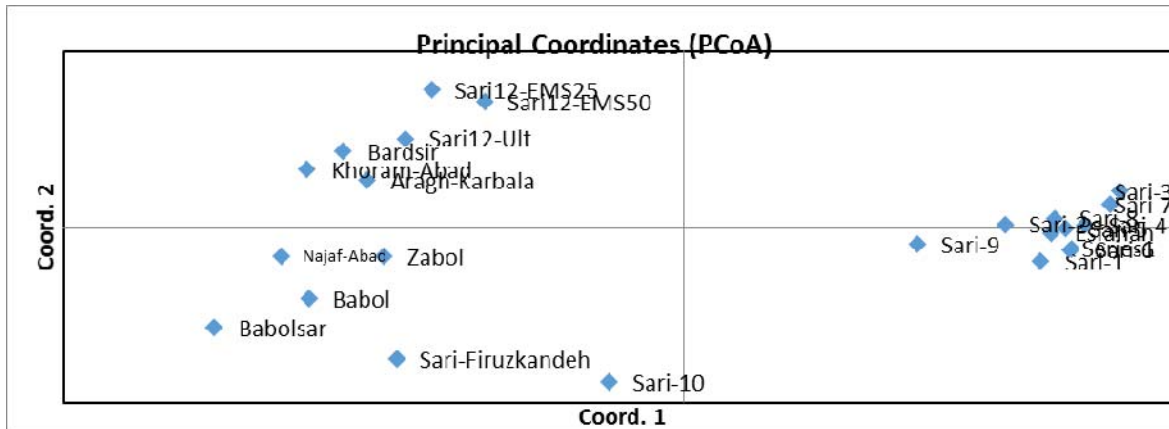
تجزیه خوشه‌ای اکوتیپ‌های مورد مطالعه با مقایسه روش‌های مختلف، به‌دلیل بالاتر بودن ضریب همبستگی کوفنتیک (۰/۹۲)، با روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد انجام شد. خط برش براساس تجزیه Structure محاسبه گردید. بنابراین اکوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم شدند (شکل ۳).



شکل ۳- گروه‌بندی اکوتیپ‌های گیاه کرچک مورد بررسی براساس روش خوشه‌بندی UPGMA و ماتریس تشابه جاکارد

تجزیه خوشه‌ای منطبق بود. و اکوتیپ‌هایی که در تجزیه خوشه‌ای در یک گروه بودند در نمودارهای پراکنش به صورت سه‌بعدی نیز در کنار هم قرار گرفتند (شکل ۴).

تجزیه به مختصات اصلی نیز به‌عنوان روشی مکمل برای تجزیه خوشه‌ای جهت تعیین روابط ژنتیکی بین ارقام و نیز گروه‌بندی آنها، استفاده شد. نتایج بدست آمده نسبتاً با نتایج



شکل ۴- گروه‌بندی اکوتیپ‌های مختلف کرچک مورد مطالعه براساس تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از نرم‌افزار GenAlex.

۹	۰/۰۱۲	۰/۹۸
۱۰	۰/۱۸۷	۰/۸۱
۱۱	۰/۶۵	۰/۳۴
۱۲	۰/۹۵	۰/۰۴۲
۱۳	۰/۹۹	۰/۰۰۲
۱۴	۰/۹۹	۰/۰۰۵
۱۵	۰/۹۹	۰/۰۰۳
۱۶	۰/۹۸	۰/۰۱۴
۱۷	۰/۹۹	۰/۰۰۶
۱۸	۰/۹۹	۰/۰۰۴
۱۹	۰/۹۹	۰/۰۰۷
۲۰	۰/۹۲	۰/۰۰۸
۲۱	۰/۹۵	۰/۰۰۴
۲۲	۰/۸۳	۰/۱۶۸

برای روشن‌تر شدن ارتباط ژنتیکی بین جمعیت‌ها به بررسی تنوع و ساختار جمعیت‌ها پرداخته شد. شاخص‌های تنوع جمعیتی Shannon و Nei (۱۹۷۳)، درصد چندشکلی جمعیت‌ها، میانگین تعداد الل‌های مشاهده شده، (Na)، نسبت تعداد الل‌های موثر (Ne) به الل‌های مشاهده شده (Ne/Na)، با استفاده از نرم افزار Popgen ver 32 محاسبه شد (جدول ۸).

بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها براساس داده‌های ISSR و با استفاده از روش ANOVA و همکاران (۲۰۰۵) نشان داده که بیشترین میزان Δk در مقابل تغییرات K و $K=2$ به دست آمد که نشان می‌دهد که جمعیت‌ها در دو گروه (زیر-جمعیت) قرار دارند. نسبت عضویت جمعیت‌های جغرافیایی در هر یک از دو گروه بین ۰/۰۰۳-۰/۹۹ متغیر است. (جدول ۷).

جدول ۷- نسبت عضویت اکوتیپ‌ها در دو زیرجمعیت کرچک مورد مطالعه

اکوتیپ‌ها	۱	۲
۱	۰/۰۶۷	۰/۹۳۳
۲	۰/۰۹۴	۰/۹۰۶
۳	۰/۰۰۴	۰/۹۹
۴	۰/۰۰۴	۰/۹۹
۵	۰/۰۰۵	۰/۹۹
۶	۰/۰۰۷	۰/۹۹
۷	۰/۰۰۳	۰/۹۹
۸	۰/۰۰۴	۰/۹۹

جدول ۸- پارامترهای اندازه‌گیری شده در رابطه با تنوع ژنتیکی براساس نشانگرهای ISSR در جمعیت‌های کرچک

جمعیت	تعداد نمونه	%PL	Fst	Na	Ne	I	Ne/Na
Pop1	۱۰	۶۵/۶۱	۰/۲۸۹	۱/۴۳	۱/۳۹	۰/۳۴	۰/۹۷
Pop2	۱۲	۸۰/۹۵	۰/۴۱۳	۱/۷۰	۱/۴۵	۰/۴۰	۰/۸۵

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر با استفاده از نشانگر ISSR تنوع بین و درون جمعیتی برخی اکوتیپ‌های کرچک (*Ricinus communis*) ارزیابی گردید. این نشانگر نتایج چندشکلی قابل توجهی (۹۵/۵۸ درصد) را در الگوی بانندی نشان داد. از میان آغازگرهای مورد بررسی آغازگر ISSR-36 با ۱۹ باند دارای بیشترین میزان چندشکلی بود، که نتایج حاضر با پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر ISSR بر روی گیاه کرچک از نظر میزان چندشکلی همخوانی داشت (۴۵). همچنین در مطالعه‌ای که از ۹ آغازگر ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی در کرچک استفاده شد، در مجموع ۸۳ باند با وضوح بالا و ۷۴/۵۳٪ چندشکلی مشاهده شد (۲۰). در مطالعه‌ای که بر روی ۱۸ اکوتیپ پنیوک با استفاده از ۱۵ نشانگر ISSR انجام شد میانگین درصد چندشکلی بالایی برابر با ۹۸/۱۲ گزارش گردید (۴).

از آنجایی که شاخص قدرت تفکیک (RP) هم از تعداد افراد دارای باند و هم از تعداد آلل تاثیر می‌پذیرد بهترین شاخص برای آغازگر مناسب می‌باشد (۱۹). میزان RP در آغازگر ISSR-9 با ۱۵/۹ بیشترین مقدار را داشت و نشان می‌دهد که این آغازگر نسبت به دیگر آغازگرها قدرت تفکیک بهتری دارد. بیشترین میزان (EMR) برای آغازگر ISSR-36 (۲۴) و کمترین میزان برای آغازگر ISSR-2 (۳/۵۷) بود. بالا بودن میزان شاخص نشانگر (MI) نشان‌دهنده تولید تعداد بیشتری باند چندشکل و فراهم کردن اطلاعات بیشتری از ژنوم می‌باشد (۴۱). بالاترین میزان شاخص نشانگر (۶/۶۴) در آغازگر ISSR-36 مشاهده گردید که نشان‌دهنده کارایی خوب این آغازگر در مقایسه با

سایر آغازگرها می‌باشد. در بررسی میزان تنوع ژنتیکی ۲۷ ژنوتیپ کرچک در کشور برزیل میزان MI بین ۱/۷۲ تا ۵/۰۷ و میزان RP بین ۱/۶۳ تا ۹/۵۵ متغیر بود (۴۳). بیشترین مقدار اطلاعات چندشکلی در این پژوهش مربوط به آغازگر ISSR-43 به میزان ۰/۴۳ می‌باشد. طی مطالعه‌ای که بر روی کرچک با استفاده از نشانگرهای SSR انجام مقادیر PIC بین ۰/۲۶-۰/۴ را گزارش شد (۳۸). در حالیکه که در تحقیقی دیگر که بر روی همین گیاه با استفاده از پرایمرهای SSR انجام شد مقادیر بالای PIC (۰/۸۱) و همچنین صد درصد چندشکلی نیز مشاهده شد (۳۱). خوشه‌بندی حاصل از دندروگرام نشان می‌دهد اکوتیپ‌های ۱ تا ۹ در یک خوشه و اکوتیپ ۱۰ در خوشه‌ای جداگانه و اکوتیپ‌های ۱۱-۲۲ در خوشه سوم قرار گرفتند، همچنین آنالیز کلاستر بندی براساس $K=2$ با استفاده از نرم‌افزار Structure تعداد زیرجمعیت‌ها در اکوتیپ‌های مختلف کرچک داده‌های ISSR اکوتیپ‌ها را به دو زیرجمعیت تقسیم نمود. برای تایید و بررسی دقیق‌تر ارتباط بین و درون جمعیت‌ها از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) استفاده گردید که نتایج آن تا حدودی با نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس روش UPGMA مطابقت داشت که شاید یکی از دلایل تفاوت در این گروه‌بندی‌ها اینست که دندروگرام در تجزیه خوشه‌ای براساس ۱۰۰ درصد واریانس می‌باشد در حالیکه در تجزیه به مختصات اصلی تقریباً از ۶۰ درصد واریانس کل استفاده شد بنابراین اختلافاتی در دو روش وجود داشت، انتظار بر این بود که اکوتیپ‌های جمع‌آوری شده از استان مازندران در یک خوشه قرار بگیرند در حالیکه که طبق خوشه‌بندی صورت گرفته اکوتیپ‌های بابل و بابلسر و فیروزکنده در خوشه

مشابه که بر روی گیاه کرچک بر اساس آنالیز AMOVA انجام شد، نشان دادند که تنوع ژنتیکی درون جمعیت بیشتر از بین جمعیت‌ها است (۱۶). در پژوهشی که بر روی گیاه فلفل با استفاده از نشانگر ISSR انجام شد تنوع ژنتیکی درون گروه‌ها (۷۴ درصد) بیشتر از تنوع بین گروه‌ها (۲۶) گزارش شد (۵). برای برآورد تنوع ژنتیکی در گیاهان عالی‌زمانیکه که از نشانگر غالب برای مطالعات ژنتیک جمعیت-ها استفاده می‌شود، هنوز هم از دو شاخص ژنی نی و شانون که براساس فراوانی آلل‌ها می‌باشد، استفاده می‌شود (۴۰). متوسط شاخص شانون 0.27 و متوسط فاصله ژنتیکی نی 0.193 برآورد شد. در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در نیچریه شاخص شانون ($1/43$) و شاخص تنوع ژنی نی (0.72) گزارش شد که بیانگر وجود تنوع در بین ژنوتیپ‌ها بود (۳۷). با وجود عدم بالا بودن ضریب تشابه، عدم شباهت اقلیمی و فاصله جغرافیایی بالا، برخی اکوتیپ‌ها در کنار هم قرار گرفته‌اند. بررسی تنوع ژنتیکی می‌تواند در مدیریت ژرم پلاسما کرچک مفید باشد با توجه به نتایج این پژوهش ارزیابی تنوع ژنتیکی امکان شناسایی اکوتیپ‌های مطلوب بمنظور بهره‌گیری از این گیاه را فراهم نماید. همچنین نشانگر ISSR توانایی تفکیک اکوتیپ‌های مختلف کرچک را دارد. بنابراین می‌توان از آن به‌عنوان یک ابزار مناسب جهت برنامه‌های اصلاحی آینده استفاده نمود. از آنجایی که بر روی گیاه کرچک کارهای اصلاحی اندکی صورت گرفته توصیه می‌شود اکوتیپ‌های بیشتری از مناطق با اقلیم‌های متفاوت‌تری جمع‌آوری و همچنین از تعداد بیشتری آغازگر استفاده شود تا شناخت بیشتری نسبت به این گیاه روغنی دارویی بدست آید.

سپاسگزاری

بدینوسیله نگارندگان از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان که در تامین منابع مالی اجرای این پژوهش همکاری نمودند، قدردانی می‌نمایند.

دوم قرار گرفتند، در واقع می‌توان گفت که نمونه‌هایی که از لحاظ جغرافیایی نزدیک هم هستند الزاما از لحاظ ژنتیکی تشابه بیشتری ندارند. در پژوهشی دیگری که بر روی کرچک انجام شد، هیچ گونه شواهدی از تأثیر منشا جغرافیایی بر الگوی خوشه‌بندی و توزیع تصادفی ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد و بنابراین پیشنهاد گردید که عوامل دیگری نظیر انتخاب طبیعی، مصنوعی و رانش ژنتیکی را به‌عنوان فاکتورهای کمک‌کننده به تنوع مشاهده شده بین ژنوتیپ‌ها در نظر بگیریم (۳۷). ارزیابی تنوع ژنتیکی کرچک از ۴۸ کشور دنیا که در مرکز تحقیقات گریفین، جورجیا تهیه شده بود با استفاده از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) تنوع ژنتیکی بالایی بین جمعیت‌های کرچک مشاهده شد اما همبستگی بین منشا جغرافیایی و تنوع ژنتیکی وجود نداشت (۱۲). نتایج بررسی تنوع ژنتیکی در گیاه کرچک جمع‌آوری شده از ۵ قاره (۳۵ کشور) با استفاده از نشانگر-های AFLP و SSR بیانگر تأثیر منشا جغرافیایی بر روی تنوع ژنتیکی نبود در واقع تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسما ۳۵ کشور بسیار کم بود (۱۴). برای محاسبه تفرق ژنتیکی از شاخص Fst استفاده و میانگین آن برای هر کدام از زیر-جمعیت‌ها با نرم‌افزار Structure محاسبه گردید. که سطح نسبتاً بالایی از تفرق ژنتیکی را در این گیاه را نشان داد. نتایج حاکی از تمایز ژنتیکی قابل ملاحظه بین اکوتیپ‌ها است که این امر با توجه به نحوه تولیدمثل این گیاه (دگرگشتی) طبیعی است. اگر نسبت تعداد آلل‌های موثر به مشاهده شده بالا باشد به این معنی است که جمعیت مورد نظر به نسبت جمعیت‌ها از توزیع یکنواخت‌تری برخوردار است که با توجه به نتایج جمعیت اول که در برگیرنده ۱۰ اکوتیپ می‌باشد بیشترین (0.97) یکنواختی را دارا است که بیانگر این است که نسبت آلل‌هایی که فراوانی برابر دارند به کل آلل‌های جمعیت دیگر بیشتر می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که از میزان کل واریانس مشاهده شده، ۳۷ درصد به تنوع بین جمعیت‌ها و ۶۳ درصد به تنوع درون جمعیت‌ها مربوط است. در پژوهشی

منابع

- ۴- نوریان، ع. و شیروانی، ه. (۱۳۹۸). بررسی تنوع ژنتیکی اکتیپ‌های پنیرک (*Malva neglecta*) با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR. *مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) (علمی)*. ۳۲(۴): ۸۱۴-۸۰۶.
- ۵- صالحیان، م.، درویش زاده، ر. و رضازاده، م. (۱۴۰۰). ارزیابی تنوع ژنتیکی و تجزیه ارتباط برای صفات آگرومورفولوژیکی فلفل (*Capsicum spp.*) با استفاده از نشانگرهای ISSR. *مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران) (علمی)*. ۳۴(۱): ۱۳۸-۱۲۶.
- ۶- Allan, G., Williams, A., Rabinowicz, P. D., Chan, A. P., Ravel, J., and Keim, P. 2008. Worldwide genotyping of castor bean germplasm (*Ricinus communis* L.) using AFLPs and SSRs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55, PP: 365-378.
- 7- Bajay, M. M. 2010. Development of microsatellite markers and characterization of germplasm of castor (*Ricinus communis* L.). Dissertation, Universidade de Sao Paulo-USP, Brazil.
- 8- Berman, P., Nizri, S., and Wiesman, Z. 2011. Castor oil biodiesel and its blends as alternative fuel. *Biomass and bioenergy*, 35(7), PP: 2861-2866.
- 9- Bhavesh, B. G., Kumar, N., Singh, A. S., Punvar, B. S., Ravikiran, R., Subhash, N., and Jadeja, G. C. 2010. Assessment of genetic diversity in castor (*Ricinus communis* L.) using RAPD and ISSR markers. *Industrial Crops and Products*, 33, PP: 491-498.
- 10- Bird, C., Schweizer, M., Roberts, A., Austin, W. E., Knudsen, K. L., Evans, K. M., and Darling, K. F. 2020. The genetic diversity, morphology, biogeography, and taxonomic designations of Ammonia (*Foraminifera*) in the Northeast Atlantic. *Marine Micropaleontology*, 155, PP: 101726.
- 11- Domyati, F. M., Younis, R. A., Edris, S., Mansour, A., Sabir, G., and Bahieldin, A. 2011. Molecular markers associated with genetic diversity of some medicinal plants in Sinai. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(2), 200-210.
- 12- Dong, H., Wang, C., Li, W., Yang, G. X., Yang, H., Wang, Y. R., Chen, M. H., Li, F. J., Feng, Y., and Chen, G. 2012. Castor germplasm diversity analysis using AP-PCR and RMAPD. *Academic Periodical of Farm Products Processing*, PP: 23-36.
- 13- Dwevdi, K. K., and Gaibriyal, M. 2009. Assessment of genetic diversity of cultivated chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Asian Journal of Agriculture Science*, 1(1), PP: 7-8.
- 14- Foster, J. T., Allan, G. J., Chan, A. P., Rabinowicz, P. D., Ravel, J., Jackson, P. J., and Keim, P. 2010. Single nucleotide polymorphisms for assessing genetic diversity in castor bean (*Ricinus communis* L.). *BMC Plant Biology*, 10(13), PP: 1-11.
- 15- Gajera, B. B., Kumar, N., Singh, A. S., and Punvar, B. S. 2010. Assessment of genetic diversity in castor (*Ricinus communis* L.) using RAPD and ISSR markers. *Industrial Crops and Products*, 32, PP: 491-498.
- 16- Goodarzi, F., Darvishzadeh, R., and Hassani, A. 2015. Genetic analysis of castor (*Ricinus communis* L.) using ISSR markers. *Journal of Plant Molecular Breeding (JPMB)*, 3, PP: 18-34.
- 17- Kallamadi, P. R., Ganga Rao Nadigatlab, V. P. R., and Mulpuriba, S. 2015. Molecular diversity in castor (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products*, 66, PP: 271-281.
- 18- Kanti, M., Anjani, K., Usha Kiran, B., and Vivekananda, K. 2015. Agro-morphological and molecular diversity in castor (*Ricinus communis* L.) germplasm collected from Andaman and Nicobar Islands, India. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 51, PP: 96-109.
- 19- Kayis, S. A., Hakki, E. E., and Pinarkara, E. 2010. Comparison of effectiveness of ISSR and RAPD markers in genetic characterization of گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۲۴(۱)، ۷۹-۹۱.
- ۲- زهرایی، ح. ر.، لایبی، ق. و نقویان، ع. (۱۳۹۷). بررسی تنوع ژنتیکی ارقام کرچک با استفاده از نشانگر مولکولی رپید. سومین همایش ملی علوم زیستی. دامغان. ایران.
- ۳- شهسواری، ر. (۱۳۹۱). اثر فواصل بین و روی ردیف کاشت بر برخی صفات زراعی کرچک قرمز. به‌زراعی نهار و بذر. ۲۸(۲): ۱۴۵-۱۵۵.

- seized marijuana (*Cannabis sativa* L.) in Turkey. *African Journal of Agricultural Research* 5(21), PP: 2925-2933.
- 20- Kim, H., Lei, P., Wang, A., Liu, S., Zhao, Y., Huang, F., and Meng, F. 2021. Genetic Diversity of Castor Bean (*Ricinus communis* L.) Revealed by ISSR and RAPD Markers. *Agronomy*, 11(3), 457 p.
- 21- Kole, C. h., and Rabinowicz, P. 2018. The castor bean genome. Switzerland: Springer Nature, 272 p.
- 22- Laurentin, H. 2009. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(2), PP: 277-292.
- 23- McPherson, M. A., Good, A. G., Topinka, A. K. C., and Hall, L. M. 2004. Theoretical hybridization potential of transgenic safflower (*Carthamus tinctorius* L.) weedy relatives in the New World. *Canadian Journal of Plant Science*, 84, PP: 923-934.
- 24- Milani, M., Dantas, F. V., Martins, W. F. S. 2009. Genetic divergence among castor bean genotypes by morphologic and molecular characters. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas*, 13(2), PP: 61-71.
- 25- Muraguri, S., Xu, W., Chapman, M., Muchugi, A., Oluwaniyi, A., Oyebanji, O., and Liu, A. 2020. Intraspecific variation within Castor bean (*Ricinus communis* L.) based on chloroplast genomes. *Industrial Crops and Products*, 155, 112779.
- 26- Nei, M. 1973. Analysis of genetic diversity in subdivided population. *Proc. National Academy of Sciences of the United States of America*, PP: 3321-3323.
- 27- Pawell, W., Morganet, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., and Rafalaski, A. 1996. The comparison of RFLP, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2, PP: 225-238.
- 28- Peakall, R. O. D., and Smouse, P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular ecology notes*, 6(1), 288-295.
- 29- Pecina-Quintero, V., Anaya-López, J. L., Núñez-Colín, C. A., Zamarripa-Colmenero, A., Montes-García, N., Solís-Bonilla, J. L., and Aguilar-Rangel, M. R. 2013. Assessing the genetic diversity of castor bean from Chiapas, México using SSR and AFLP markers. *Industrial Crops and Products*, 41, PP: 134-143.
- 30- Prevost, A., and Wilkinson, M. J. 1999. A new system for comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, PP: 107-112.
- 31- Quintero, V., Anaya-López, J. L., Núñez-Colín, C. A., Zamarripa-Colmenero, A., Montes-García, N., Solís-Bonilla, J. L., and Aguilar-Rangel, M. R. 2013. Assessing the genetic diversity of castor bean from Chiapas, México using SSR and AFLP markers. *Industrial Crops and Products*, 41, PP: 134-143.
- 32- Rana, T. S., Mahar, K. S., Pandey, M. M., Srivastava, S. K., and Rawat, A. K. S. 2013. Molecular and chemical profiling of 'sweet flag' (*Acorus calamus* L.) germplasm from India. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(2), PP: 231-237.
- 33- Reddy, K. P., Nadigatla, V. P. R. G. R., Mulpuri, S. 2015. Molecular diversity in castor (*Ricinus communis* L.). *Industrial Crops and Products*, 66, PP: 271-281.
- 34- Rohlf, F. J. 1993. Numeric taxonomy and multivariate analysis system. *NTSYS-pc*.
- 35- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Vanbockstaele, E., Depicker, A., De Loose, M. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular Breeding*, 6, PP: 125-134.
- 36- Rukhsar Patel, M. P., Parmar, D. J., Kalola, A. D., and Kumar, S. 2017. Morphological and molecular diversity patterns in castor germplasm accessions. *Industrial Crops and Products*, 97, PP: 316-323.
- 37- Salihu, B. Z., Falusi, O. A., Adepoju, A. O., Arolu, I. W., Daudu, O. Y., Abejide, D. R., and Oke, Ch. O. 2019. Assessment of Genetic Diversity of Promising Castor Bean (*Ricinus communis* L.) Genotypes in Nigeria. *Notula Scientia Biologicae*, 11(3), PP: 467-474.
- 38- Seo, K., Lee, G., Ma, K., Hyun, D., Park, Y., Jung, J. W., and Lee, M. 2011. Isolation and characterization of 28 polymorphic SSR loci from castor bean (*Ricinus communis* L.). *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 14(2), PP: 97-103.
- 39- Singh, A., Kumari, S., Modi, A. R., Gajera, B. B., Narayanan, S., and Kumar, N. 2015. Role of conventional and biotechnological approaches in genetic improvement of castor (*Ricinus*

- communis* L.). *Industrial Crops and Products*, 74, PP: 55-62.
- 40- Song, Z., Li, X., Wang, H., and Wang, J. 2010. "Genetic diversity and population structure of *Salvia miltiorrhiza* Bge. in China revealed by ISSR and SRAP". *Genetica*, 138, PP: 241-49.
- 41- Spooner, D., van Treuren, R., and de Vicente, M. C. 2005. Molecular markers for genebank management. IPGRI Technical Bulletin No. 10. Plant Genetic Resources Institute (now Bioversity International, Inc.), Rome.
- 42- Tahir, N. A. R., and Karim, H. F. H. 2011. Determination of genetic relationship among some varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Sulaimani by RAPD and ISSR markers. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 4, PP: 77-86.
- 43- Vasconcelos, S., Onofre, A. V. C., Milani, M., Benko-Iseppon, A. M., and Brasileiro-Vidal, A. C. 2016. Accessing genetic diversity levels of Brazilian genotypes of castor with AFLP and ISSR markers. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, 21(1), PP: 24-31.
- 44- Vivodík, M., Balážová, Z., Gálová, Z., and Hložáková, T. K. 2015. Evaluation of molecular diversity of new castor lines (*Ricinus communis* L.) using random amplified polymorphic DNA markers. *Horticultural Biotechnology Research*, 1, PP: 1-4.
- 45- Wang, Ch., Li, G. R., Zhang, Z. Y., Peng, M., Shang, Y., Luo, R., and Chen, Y. S. 2013. Genetic diversity of castor bean (*Ricinus communis* L.) in Northeast China revealed by ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, PP: 301-307.
- 46- Wang, M. L., Dziejewit, M., Chen, Z., Morris, J. B., Norris, J. E., Barkley, N. A., Tonnis, B., Pederson, G. A., Yu, J. 2017. Genetic diversity and population structure of castor (*Ricinus communis* L.) germplasm within the US collection assessed with EST-SSR markers. *Genome*, 60 (3), PP: 193-200.
- 47- Weiss, E. A. 2000. *Oilseed Crops*, Blackwell Science, 384 p.
- 48- Yeh, F. C., Yang, R. C., Mao, J., Ye, Z., and Boyle, T. J. 1996. POPGENE, the Microsoft Windows-based user-friendly software for population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Dept. Renewable Resources, University of Alberta, Edmonton, Canada*, 238.
- 49- Zheleva, D., Todorovska, E., Chirstov, N., Ivanov, P., Ivanov, I., and Todorov, I. 2007. Assessing the genetic variation in Bulgarian bred wheat varieties by biochemical and molecular markers. *Biotechnology and Biotechnology Equipment*, 12, PP: 311-321.
- 50- Zheng, L., Qi, J., Fang, P., Su, J., Xu, J. and Tao, A. 2010. Genetic diversity and phylogenetic relationship of castor germplasm as revealed by SRAP analysis. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 28(1), PP: 1-6.

Investigation of Genetic Diversity in Castor (*Ricinius communis*) Ecotypes Using ISSR Markers

Sharifi Soltani S.¹, Ranjbar Gh.A.^{1*}, Kazemitabar S.K.¹, Pakdin Parizi A.² and Najafi Zarini H.¹

¹ Dept. of Plant Breeding and Plant Biotechnology, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I.R. of Iran

² Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan- Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, I.R. of Iran

Abstract

Castor (*Ricinius communis* L.) is one of the oldest medicinal plants in the world. The assessment of genetic diversity in castor beans plays a vital role in identifying superior genotypes to use in plant breeding programs. For this reason, the diversity and genetic association of 22 castor ecotypes were investigated. Out of 26 screened primers, 19 primers that produced the most polymorphic bands were used. Totally, these primers generated 188 bands, of which 180 bands (95.58 %) were polymorphic. The studied ecotypes were divided into two separate group's using cluster analysis. The highest similarity was observed between ecotypes 4 and 5 (collected from Sari) and the lowest similarity was observed between ecotypes 1 and 14 (Sari and Babolsar). The highest Nei's genetic diversity (H) and Shannon index (I) were observed in population No. 2 including 12 ecotypes. According to the genetic structure of populations performed by Structure software, ecotypes were divided into two subpopulation clusters. The molecular analysis of variance showed that 37% of genetic variation attributed to between group's and 63% to within group's, which can be used in its breeding programs.

Key words: Genetic diversity, Cluster analysis, Population structure, ISSR marker