بررسی تنوع ژنتیکی خرفه‌های نیمه شمال کشور با استفاده از نشانگر مولکولی EST-SSR

علی محمد عزیزی[۱]، امیر محمد ناجی[۲]، داریوش طالعی[۳]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهد، تهران
۲-عضو هیئت علمی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهد، تهران
۳-عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران

Alimohammadazizi۷۲ashkbos@gmail.com

چکیده

خرفه با نام علمی *(Portulaca oleracea)* هشتمین علف هرز رایج در دنیا است که سازمان بهداشت جهانی، با توجه به پژوهش‌های انجام شده در سال‌های اخیر، به‌عنوان اکسیر جهانی (*global panacea)* نام‌گذاری کرده است. خرفه دارای خواص متعددی است که برای درمان اکثر بیماری‌ها و همچنین برای تهیه سوپ و سالاد کاربرد فراوانی دارد. اطلاع از میزان تنوعات ژنتیکی وراثت پذیر، یکی از اطلاعات پایه‌ای و لازم، برای پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی است. بررسی مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی، راهکار مناسبی است که وجود اختلافات و تشابهات ژنتیکی در میان افراد و جمعیت‌های گیاهی مورد مطالعه را آشکار می‌سازد. تعداد ۳۱ جمعیت از استان‌های نیمه‌ی شمالی کشور جهت مطالعه‌ی تنوعات مولکولی، جمع‌آوری و کشت شد. پس از استخراج DNAی ژنومی، از ۱۰ جفت آغازگر EST-SSR برای تکثیرقطعات DNA استفاده شد که ۵ نشانگرالگوی قابل ارزیابی نشان دادند. شاخص تنوع ژنی، محتوای اطلاعات چندشکلی، میزان هتروزیگوتی و شاخص شانون به‌ترتیب ۰,۵۷، ۰,۵۱، ۰,۲۹ و ۰,۹۳ محاسبه شد که نشان‌دهنده‌ی قدرت تمایز نشانگر و وجود اختلافات بالا در سطح ماده‌ی ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه بود. تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی، جمعیت‌های مورد مطالعه را در ٤ گروه بزرگ قرار داد. تجزیه به مولفه‌های اصلی، نتایج حاصل از خوشه‌بندی را تأیید نمود. به طورکلی از نتایج بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که خرفه‌های نیمه‌ی شمال کشور دارای تنوع ژنتیکی بالایی می‌باشند.

کلمات کلیدی: خرفه، تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی، EST-SSR

مقدمه

بنابر اعلام سازمان بهداشت جهانی، بیش از ۸۰ درصد از مرد م دنیا برای درمان بیماری‌ها از گیاهان دارویی استفاده می‌کنند (۲). خرفه گیاهی است یک‌ساله، تابستانه، با ساقه‌های استوانه‌ای آبدار که تا ارتفاع ۱۳-۱۵ سانتی‌متر رشد کرده و گل‌ها با شکوفه‌های زرد رنگ در محور برگ، بذرهای بارور و سیاه‌رنگ تولید می‌کنند (۳). سابقه‌ی کشت گیاه خرفه به ۲۰۰۰ سال قبل به زمان مصر باستان برمی‌گردد (٤). برای درمان بیماری‌هایی چون سرطان، اسهال خونی، بیماری‌های قلبی، گازگرفتگی حشرات و اقدامات پیشگیرانه به دلیل خاصیت ضد باکتریایی، قارچی و عفونت‌های شناخته‌شده است (۳). خرفه همچنین دارای مقادیر بالایی اسیدهای چرب ضروری چند اشباعی امگا ۳ و امگا ٦ که توسط بدن انسان ساخته نمی‌شود، اما هضم می‌شود، هست (۷). اندام‌های رویشی خرفه در مناطق مختلف برای تهیه‌ی سوپ و سالاد و دمنوش و از بذر آن در صنایع شیرینی‌پزی برای تزبین شیرینی استفاده می‌شود (۳). این گیاه علوفه‌ای خوشخوراک و مغذی برای دامداران روستایی محسوب می‌شود (۱) و نه تنها دارای ارزش غذایی بسیار بالایی است، بلکه سازگاری بالایی در محیط های مختلف دارد (۹)، لذا در سال‌های آتی انتظار می‌رود شاهد تحول عظیمی درزمینه‌ی درمانی و تغذیه‌ای و درآمدهای ناشی ازصادرات این محصول باشیم (۱). از نظر ژنتیکی، تنوع به آن دسته از اختلاف‌هایی که ناشی از تفاوت در ساختار ژنتیکی افراد باشد اطلاق می‌گردد که این اختلافات وراثت‌پذیر بوده در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت بسیاری برخوردار است (٤). یکی از اطلاعات پایه‌ای و لازم برای اصلاح هرگیاهی اطلاع از وجود میزان تنوع ژنتیکی در بین ارقام و جمعیت‌های بومی و اجداد وحشی می باشد (۸). بررسی و مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی راهکاری است که اختلافات و شباهت گونه‌ها، جمعیت‌ها و یا افراد را با استفاده از روش‌ها ومدل‌های آماری خاص[۱]، برای صفات ریخت‌شناختی، اطلاعات شجره ای و خصوصیات مولکولی افراد بیان می دهد (٤). برهمین اساس جهت ایجاد بستر اولیه برنامه‌های به‌نژادی و پی بردن به درصد تنوعات موجود و لزوم حفظ و نگه‌داری ژرم پلاسم گیاه، در مطالعه ای با استفاده از نشانگر EST-SSR میزان تنوعات موجود در بین جمعیت‌های بومی استان‌های نیمه شمالی کشورانجام شد.

---
[۱] بیومتری

مواد و روش ها:

جمعیت های مورد مطالعه، در تابستان ۱۳۹۶ از مزارع، باغات و رویشگاه‌های طبیعی استان‌های تهران، قزوین، زنجان، گلستان، مازندران، گیلان، آذربایجان شرقی جمع آوری شد. نمونه‌ها در اواخر اردیبهشت ۱۳۹۷ پس از آماده سازی زمین و مساعد شدن شرایط جوی، در مزرعه‌ی تحقیقاتی گیاهان دارویی دانشگاه شاهد کشت گردید. آبیاری مزرعه متناسب با نیاز آبی گیاهان انجام شد. تعداد ۵ فرد از هر جمعیت جهت بررسی های مولکولی انتخاب شد. استخراج DNAی ژنومی از برگ های جوان طبق روش CTAB (۲۰۰۳) Arus با کمی تغییر انجام شد. کیفیت سنجی DNA با الکتروفورز ژل آگارز ۰٫۸ درصد و کمیت سنجی آن توسط دستگاه نانودراپ انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با ۱۰ جفت آغازگر EST-SSR انجام شد (جدول ۱). برای آشکارسازی محصولات تکثیر یافته شده از ژل آگارز ۳٫۵ درصد استفاده شد و آشکارسازی باندهای حاصل با استفاده از محلول Gel red و عکس برداری از آنها با دستگاه Gel dac صورت گرفت. امتیازدهی باندها براساس الگوی شناسایی آلل‌ها و حضور یا عدم‌حضور باندها صورت گرفت و ماتریس داده‌های حاصل، برای محاسبه‌ی آماره‌های تنوع ژنتیکی ازجمله: تعداد آلل‌های مشاهده (na)، تعداد آل‌های موثر (ne)، شاخص تنوع ژنتیکی نی (Nei)، شاخص تنوع شانون (h)، محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC)، هتروزیگوستی(Het)، تجزیه واریانس مولکولی (ANOVA)، تجزیه ی خوشه‌ای و تجزیه با مختصات اصلی مورد استفاده قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و Power marker و Pop gene و Darvin و Gene alex انجام شد.

جدول۱- مشخصات آغازگر های EST-SSR

Marker	Motif	Forward	Reverse	Tm (°C)
EST-SSR9	(ACA)11	CAATCATCATGCAGTGCTCT	GTTGTAGGTCACTCCATTCC	48
EST-SSR13	(AAG)8	GTTTGGCGGTGGATTGAGA	ATGGTGAGGAGGATGTGGG	55
EST-SSR15	(CAG)8	GTCAACAACCACAACCAAAT	GTTGATGGCATTGTTGATCT	53
EST-SSR19	(ACA)4	ATCATCATGCAGTGCTCTCT	AACTGGTTGTTCACGTTGTT	58.5
EST-SSR20	(TAA)15	TAAAGTAGGCCAACTGCAAA	ACTTTGATTGGAGGAAGAGG	53
EST-SSR22	(GAT)10	TCAACCTGCCAAAGTACAAT	TTTTTCTTGGCTGTAGCTTG	50.4
EST-SSR23	(GAT)6	ACTGACACAAATGGAAATGC	GCTCGTCAATAGTGAGATCG	50
EST-SSR26	(CGA)6	GAGAGACGACTGGCATACTG	CCACCTGTTGACATCCTATG	55.8
EST-SSR41	(GGA)5	TAACCCAGCTATGCCTTACA	TCTCCTTCCTCTTTGACCTC	55.6
EST-SSR46	(TAA)4	AGTATCTGGGATTCCTTTCG	ACTGATGTTGGATGAGCAAC	53

نتایج وبحث

بررسی شاخص های نشانگری:

در این مطالعه، از ۵ نشانگر چندشکل مورد بررسی در مجموع ۲۰ آلل مشاهده شد. که تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر جایگاه آللی از ۳ تا ۵ آلل متغیر بود که به طور متوسط ٤ آلل محاسبه شد. آغازگر EST-SSR۹ با ۵ آلل بیشترین تعداد آلل و کمترین تعداد آلل‌ها مربوط به آغازگر EST-SSR۱۵ با ۳ آلل بود. با توجه به (جدول۲) بیشترین تعداد آلل موثر ۳/۵۵ برای آغازگر EST-SSR۹ و کمترین آن ۱/۸۷ در آغازگر EST-SSR۲۲ مشاهده شد. میانگین تعداد آلل موثر در هر جایگاه برای تمامی نشانگرها ۲/۳۷ بود. این مقدار بدست آمده، به مقدار آلل مشاهده شده بسیار نزدیک و گویای تأثیر خوب آلل‌ها در چندشکلی بالا و تنوع ژنتیکی می‌باشد. میزان اطلاعات چند شکلی نشانگرها از ۰/٦۸ تا ۰/۳۹ به ترتیب برای آغازگر های EST-SSR۹ و EST-SSR۱۵ متغیر بود و میانگین آن ۰/۵۱ برآورد گردید. هر چه مقدار این شاخص بیشتر باشد نشان دهنده چندشکلی بالا و وجود آلل‌های کمیاب در جایگاه ژنی و قدرت تمایز بالای آن پرایمر در جمعیت می‌باشد. بیشترین مقدار محتوای اطلاعات چند شکلی برای نشانگرEST-SSR۹ با مقدار ۰/٦۸ بود در نتیجه بهتر از سایر نشانگرها توانسته بود فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها را مشخص کند. مقادیر بالای این معیار، دلالت بر چندشکلی زیاد در یک جایگاه نشانگری دارد که در تفکیک و تمایز افراد نقش به‌سزایی دارد. (۱۱). در نتیجه از نشانگر EST-SSR۹ می‌توان برای تجزیه مجموعه ژرم پلاسم دیگر ژنوتیپ‌های گیاه خرفه در تحقیقات بعدی استفاده کرد. نشانگرSSR۱۵ با کمترین میزان شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی توانایی قابل قبولی در جداسازی جمعیت ها را نداشت.

نشانگرEST-SSR۹ دارای بیشترین شاخص تنوع ژنی و شاخص شانون به ترتیب ۰/۷۳ و ۱/۳۱ بود که نشان دهنده‌ی کارایی بالای این نشانگر در تمایز افراد جمعیت بود. کمترین میزان این مقادیر به ترتیب ۰/٤۹ و ۰/٦۷ برای نشانگر EST-SSR۱۵ بود و متوسط مقادیر شاخص‌های تنوع ژنی و شانون به ترتیب به صورت ۰/۵۲ و ۰/۹۳ بدست آمد. نتایج داده‌های حاصل حاکی از آن بود که نشانگرهایی که دارای میزان اطلاعات چند شکلي بالايي بودند، تنوع ژني بالايي نيز داشتند که این موضوع نشان‌دهنده همبستگي بين PIC و تنوع ژني مي‌باشد. همچنین بیشترین مقدار شاخص ژنتیکی نی و هتروزیگوسی

مشاهده شده مربوط به نشانگر EST-SSR۹ (به ترتیب ۰/۷۱ و ۰/۴۹) و کمترین این مقادیر مربوط به نشانگر EST-SSR۲۲ بود (جدول ۳). میانگین هتروزیگوسی مشاهده شده در جمعیت های مورد مطالعه نیز ۰/۳۰ بدست آمد.

جدول۲- شاخص‌های تنوع مربوط به نشانگر هایEST-SSR

آغازگر	فراوانی آلل غالب[۲]	Na	Ne	تنوع ژنی[۱]	PIC	H	I
SSR۹	۰,۳۳	۵	۳,۵۵	۰,۷۳	۰,۶۸	۰,۴۷	۱,۳۱
SSR۱۵	۰,۵۹	۳	۱,۹۲	۰,۴۹	۰,۳۹	۰,۲۵	۰,۶۷
SSR۲۲	۰,۶۷	۴	۱,۸۷	۰,۵۰	۰,۴۵	۰,۳۴	۰,۸۱
SSR۲۳	۰,۵۰	۴	۲,۴۶	۰,۶۳	۰,۵۷	۰,۲۶	۰,۹۸
SSR۴۶	۰,۶۳	۴	۲,۰۵	۰,۵۳	۰,۴۷	۰,۱۳	۰,۸۷
میانگین	۰,۵۴	۴	۲,۳۷	۰,۵۷	۰,۵۱	۰,۲۹	۰,۹۳

* شاخص شانون (I)، تنوع ژنتیکی (H)، محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC)، تعداد آلل مشاهده شده (Na)، تعداد آلل موثر (Ne)

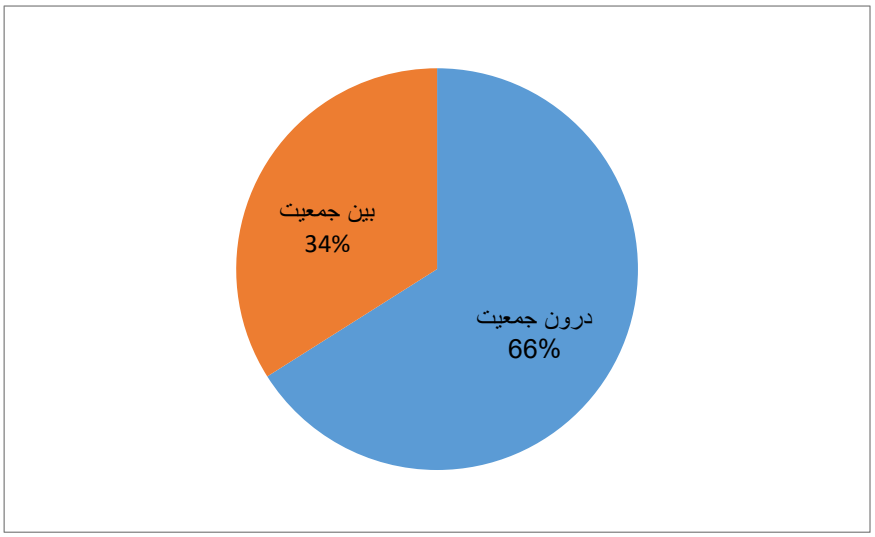
جدول۳- شاخص‌های هتروزیگوسی نشانگرهای EST-SSR

آغازگر	هموزیگوسی مشاهده شده	هتروزیگوسی مشاهده شده	هموزیگوسی مورد انتظار	هتروزیگوسی مورد انتظار	شاخص ژنتیکی Nei	میانگین هتروزیگوسی
SSR۹	۰,۵۰	۰,۴۹	۰,۲۷	۰,۷۲	۰,۷۱	۰,۷۱
SSR۱۵	۰,۷۴	۰,۲۵	۰,۵۱	۰,۴۸	۰,۴۷	۰,۴۷
SSR۲۲	۰,۶۴	۰,۳۵	۰,۵۳	۰,۴۶	۰,۴۶	۰,۴۶
SSR۲۳	۰,۷۲	۰,۲۷	۰,۴۰	۰,۵۹	۰,۵۹	۰,۵۹
SSR۴۶	۰,۸۶	۰,۱۳	۰,۴۸	۰,۵۱	۰,۵۱	۰,۵۱
Mean	۰,۶۹	۰,۳۰	۰,۴۴	۰,۵۵	۰,۵۵	۰,۵۵

۱.GeneDiversity
۲.Major Allele Frquency

بررسی شاخص های تنوع جمعیت:

به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مورد مطالعه در سطح مولکولی، تجزیه واریانس مولکولی انجام گرفت. نتایج حاصل (نمودار ۱) نشان داد که میزان تنوع در درون جمعیت‌ها ٦٦٪ و میزان تنوع بین جمعیت ها ٣٤٪ بود.



نمودار ۱- تجزیه واریانس مولکولی

با توجه به جدول (٥) جمعیت‌های ۹ و ۱۰ جمع آوری شده از استان تهران با بیشترین آلل مشاهده شده (na=۲,۲) و جمعیت‌های تهران (۱) و گلستان (۲۱) و مازندران (۲٥)، کمترین آلل مشاهده شده (na=۱,۲) را در بین جمعیت های مورد بررسی نشان دادند. با توجه به این مقادیر بیشترین و کمترین آلل موثر نیز به همین جمعیت ها تعلق گرفت. شاخص شانون برای جمعیت تهران (۹) با مقدار (۰,٦) و مازندران (۳۰) با مقدار (۰,٥) دارای بیشترین مقدار و در جمعیت‌های مازندران (۲٥) و تهران (۱) و گلستان (۲۱) به ترتیب با مقادیر (۰,۰٦) و (۰,۱) و (۰,۱) دارای کمترین این مقادیر بود. هتروزیگوتی مورد انتظار برای جمعیت های مازندران (۲٦) و مازندران (۲۷) با مقادیر (۰,٤) و (۰,٤٥) دارای ماکزیمم مقادیر و برای جمعیت مازندران (۲٤) با مقدار (۰,۰٤) دارای کمترین مقدار بود. هتروزیگوتی مشاهده شده و شاخص نی به ترتیب از بیشترین به کمترین برای نمونه های استان تهران (۹) و مازندران (۲٥) بود.

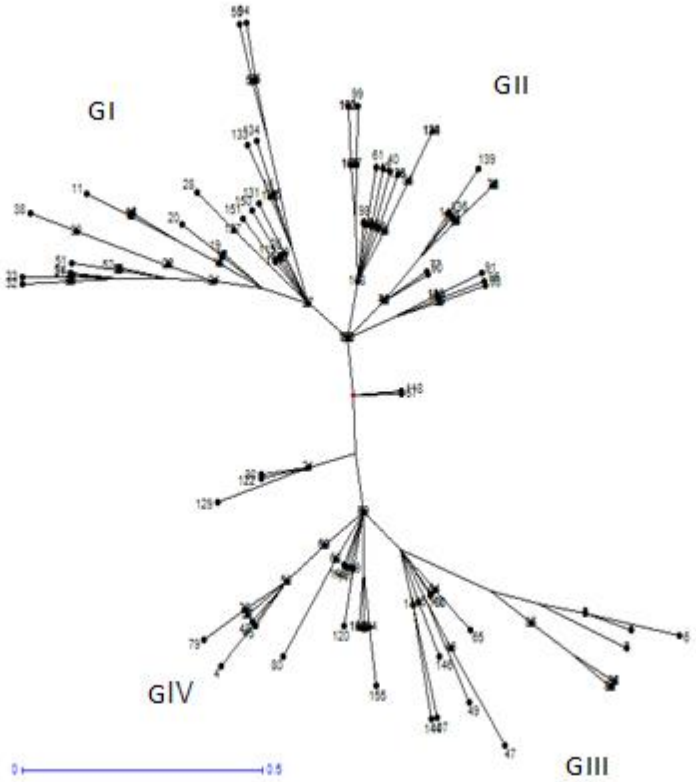
جدول ۵- شاخص های تنوع ژنتیکی هر یک از جمعیت ها با استفاده از نشانگر EST-SSR

جمعیت ها	Na	Ne	I	Obs-Het	Exp-Het	Nei
تهران(۱)	۱,۲	۱,۰۹	۰,۱	۰,۹۳	۰,۰۷	۰,۰۶
تهران(۲)	۱,۶	۱,۵۵	۰,٤	۰,۲٤	۰,۳۲	۰,۲۸
تهران(۳)	۱,۶	۱,۵۶	۰,٤	۰,٤٤	۰,۳۲	۰,۲۹
تهران(٤)	۱,۶	۱,۳۳	۰,۳	۰,۲٤	۰,۲۲	۰,۲۰
تهران(۵)	۱,٤	۱,۲	۰,۱۹	۰,۱۷	۰,۱٤	۰,۱۲
تهران(٦)	۱,۸	۱,٤۵	۰,٤۱	۰,٤۲	۰,۳۱	۰,۲۷
تهران(۷)	۱,٤	۱,۳۲	۰/۲۵	۰,۸	۰,۲	۰,۱۸
تهران (۸)	۱,۸	۱,٤٤	۰/٤۱	۰,۲۹	۰,۳۱	۰,۲۷
تهران(۹)	۲,۲	۱,۷۷	۰/٦	۰,٤۵	۰,٤۲	۰,۳۷
تهران(۱۰)	۲,۲	۱,۰۸	۰,٤۹	۰,۱۷	۰,۳۲	۰,۲۸
تهران(۱۱)	۱,۶	۱,۳۷	۰,۳۲	۰,۲٤	۰,۱۱	۰,۲۳
زنجان(۱۲)	۱,۶	۱,۳۸	۰,۳۲	۰,۳٦	۰,۲۲	۰,۲۳
زنجان(۱۳)	۱,۸	۱,۵۲	۰,٤۳	۰,٤۸	۰,۳۲	۰,۲۹
زنجان(۱٤)	۱,۸	۱,۵٤	۰,٤۵	۰,۵	۰,۳٤	۰,۳۰
زنجان(۱۵)	۱,٤	۱,۳٤	۰,۲٦	۰,۳۲	۰,۲۰	۰,۱۸
قزوین(۱٦)	۱,۸	۱,۵٤	۰,٤۷	۰,۵۳	۰,۳٦	۰,۳۲
قزوین(۱۷)	۱,٤	۱,۳۸	۰,۲۷	۰,۳٦	۰,۲۲	۰,۱۹
قزوین(۱۸)	۱,٤	۱,۳٦	۰,۲٦	۰,۳۲	۰,۲۱	۰,۱۹
قزوین(۱۹)	۱,۸	۱,۵۲	۰,٤۳	۰,۳۲	۰,۳۲	۰,۲۹
قزوین(۲۰)	۱,۸	۱,۳۲	۰,۳٦	۰,۲	۰,۲۵	۰,۲۲
گلستان(۲۱)	۱,۲	۱,۰۹	۰,۱	۰/۰۸	۰,۰۷	۰,۰٦
گلستان(۲۲)	۱,٦	۱,٤۱	۰,۳۵	۰,۲۸	۰,۲٦	۰,۲۳
آذرشرقی(۲۳)	۱,٤	۱,٤	۰,۲۷	۰,۳۲	۰,۲۲	۰,۲۰
گیلان(۲٤)	۱,۸	۱,٤۵	۰,٤۲	۰,۲۸	۰,۳۱	۰,۲۷
مازندران(۲۵)	۱,۲	۱,۰٤	۰,۰٦	۰,۰٤	۰,۰٤	۰,۰۳
مازندران(۲٦)	۱,٦	۱,٤۹	۰,۳۸	۰,٤۵	۰,۳۰	۰,۲٦
مازندران(۲۷)	۱,۸	۱,٤۳	۰,٤	۰,٤	۰,۲۹	۰,۲٦
مازندران(۲۸)	۱,٤	۱,۱٦	۰,۱۷	۰,۱٤	۰,۱۲	۰,۱۱
مازندران(۲۹)	۱,٦	۱,٤	۰,۳۷	۰,۳۹	۰,۲۹	۰,۲٦
مازندران(۳۰)	۲	۱,٤۷	۰,۵	۰,۳۳	۰,٤۱	۰,۳٦
مازندران(۳۱)	۱,۸	۱,٦۲	۰,٤۹	۰,٤۸	۰,۳۸	۰,۳٤

تعداد آلل مشاهده (na)، تعداد آلل موثر(ne)، شاخص شانون (I)، هتروزیگوتی مشاهده شده (Obs-Het)هتروزیگوتی مورد انتظار (Exp-Het) شاخص نی (Nei)،

تجزیه خوشه‌ای:

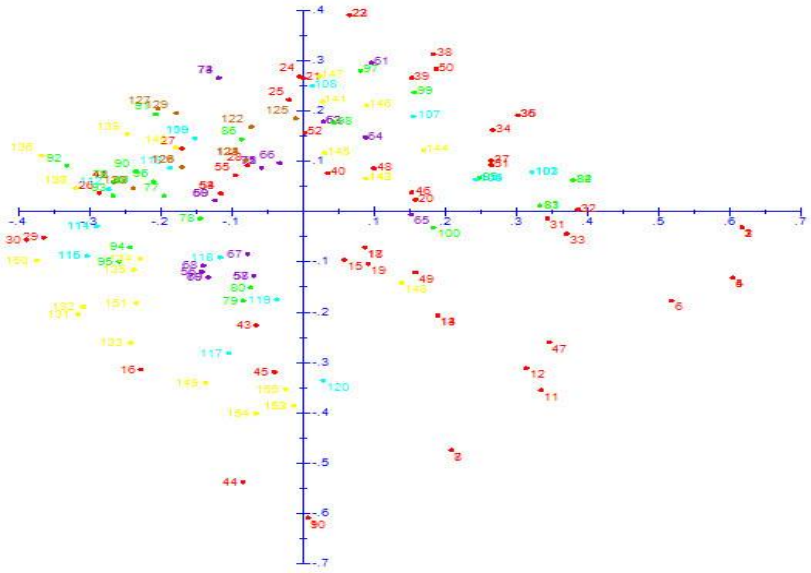
تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های خرفه به روش اتصال همسایه‌ها (*neighbor joining*) انجام شد. بر مبنای تجزیه خوشه‌ای، جمعیت‌های خرفه ی مورد مطالعه در ٤ گروه مجزا قرار داده شـــدند(شـــکل١) گروه اول بیشـــترین تعداد ژنوتیپ ها (٥٠ ژنوتیپ) را به خود اختصاص داد که ٣٢٪ از کل جمعیت‌ها بود. گروه دوم با (٤٦ ژنوتیپ)، ٣٠,٢٪ را تشکیل دادند.



شکل١- تجزیه‌ی خوشه ای ژنوتیپ های خرفه بر اساس داده های نشانگر های EST-SSR

تجریه به مختصات اصلی

درمطالعات روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها یکی از روش های آماری چند متغیره، در کنار تجزیه ی خوشه ای، تجزیه به مختصات اصلی (PCOA)[۱] است. مسمر و همکاران (۱۹۹۲)، بیان کردند که تجزیه به مختصات اصلی به همراه تجزیه خوشه‌ای منجر به توجیه بهتر داده‌های مولکولی می‌شود. تجزیه به مختصات اصلی داده‌های مولکولی بر اساس ضریب فاصله jaccard انجام شد. ترسیم پراکنش ژنوتیپ ها بر اساس دو مولفه اول نشان داد که مجموعه ژنوتیپ های مورد مطالعه را می توان به چهار گروه تقسیم نمود که گروه بندی حاصل از تجزیه کلاستر را تایید کرد (شکل٦) .



شکل٦- نمودار تجزیه به مختصات اصلی بر اساس دو مولفه اول

*رنگ ها نشان دهنده محل جمع آوری توده ها به ترتیب رنگ قرمز= تهران، رنگ سبز=زنجان، رنگ بنفش= قزوین، رنگ زرد =مازندران، رنگ آبی گلستان، رنگ قهو ای=آذربایجان شرقی و گیلان

نتیجه گیری

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل ژنتیک جمعیت های خرفه نشان داد که تنوع ژنتیکی در سطح ماده وراثتی در بین و درون جمعیت های مورد مطالعه وجود دارد. سطح بالاتری از تنوع در درون توده ها مشاهده می شود با این حال تنوع ژنتیکی معنی داری در بین جمعیت ها وجود دارد. بر اساس داده های ژنتیکی مجموعه جمعیت های مورد مطالعه را می توان به ٤ گروه ژنتیکی با بیشترین تفاوت در بین جمعیت ها تقسیم نمود .

۱.Principle Coordinate Analysis

مراجع

۱. احمدی، مسیبی، **بررسی اثرات آب مغناطیده بر میزان جوانه زنی دانه، رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاه دارویی خرفه**، پایان نامه ی کارشناسی ارشد، دانشگاه شاهد، دانشکده ی علوم پایه، ۵۹، ۱۳۹۰.

۲. تاج الدینی زاده، ابراهیم، **بررسی تنوع بیوشیمایی و ژنتیکی جمعیت‌های شنبلیله (Trigonella foenum-graecum L.) با استفاده از صفات زراعی و نشانگر مولکولی srap**، دانشگاه تحصیلات تکمیلی و صنعتی و فناوری پیشرفته پژوهشکده‌ی علوم محیطی، ۸۵، ۱۳۹۶.

۳. خلیلی باصری، ایمان، **بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های بومی خرفه (Portulaca oleracea L.) درایران**، پایان نامه ی کارشناسی ارشد دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده ی علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۷۹، ۱۳۹٤.

٤. دادبه، همایون، **تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های جو با استفاده از نشانگرهای SSR**، پایان نامه ی کارشناسی ارشد دانشگاه تبریز، دانشکده ی کشاورزی، ۹۰، ۱۳۹۲.

٥. دهقان، زهره، **تأثیر اسید سالسیلیک بر جوانه زنی بذر و برخی صفات فیزیولوژیک گیاه خرفه (Portulaca oleracea L.) تحت تنش شوری**، پایان نامه ی کارشناسی ارشد دانشگاه یاسوج، دانشکده ی کشاورزی، ۸۸، ۱۳۹۳.

٦. مظفری، سونا، خراسانی نژاد، سارا، گرگینی شبانکاره، حسین، **اثر مقادیرآبیاری براساس ظرفیت زراعی و کاربرد اسیدهیومیک بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه دارویی خرفه**، تولید گیاهان زراعی، نهم، ۱۵۳_۱۷۵، ۲۰، ۱۳۹٦.

۷. مدح سلطانی، مری، **مطالعه ی تنوع مورفولوژیکی و مولکولی درتوده های گیاه خرفه (Portulaca oleracea L.)**، پایان نامه ی کارشناسی ارشد دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده ی کشاورزی، ۹۱، ۱۳۸۹.

۸. نقوی، محمد رضا، قره یاضی، بهزاد، حسینی سالکده، قاسم، **کتاب نشانگرهای مولکولی، انتشارات دانشگاه تهران**،۳۳٤، ۱۳۸٦.

۹. Alam, A., et al ،"**Rural industries research and development corporation.**" Rural industries ,research and development corporation، (۲۰۱٤)، ۳۲.

۱۰. Aras, S, Duran, A. and G، Yenilmez, **Isolation of DNA for RAPD Analysis From Dry Leaf Material of Some Hesperis L**، Specimens, Plant Molecular Biology Reporter, , ۲۰۰۳، ۲۱٤٦۱a–٤٦۱f.

۱۱. Messmer, M.M., Melchinger, A.E., Boppenmayer, J. Brunklaus -Jung, E. and Herman, R.G، **Relatio nship among early European maize (Zea mays L.) inbreds:I. Genetic diversity among flint and dent lines revealed by RFLPs**. Crop Sc ience, ۱۹۹۲، ۳۲: ۱۳۰۱-۱۳۰۹.

۱۲. Nie M. ۱۹۸۷. **Molecular Evolutionary Genetics.** Columbia University Press, New York. Pp،۱۹۸۷۱۷٦-۱۸۷.

۱۳. Shannon C. E. and W. Weaver**, The mathematical theory of communication**. University of Illinois Press, Urbana. ۱۹٤۹

۱٤. Thimmappaiah, W. Santhosh, G. Shobha, D. and GS. Melwyn, **Assessment of genetic diversity in cashew germplasm using RAPD and ISSR Markers**. Scientia Horticulturae. ۲۰۰۸, ۱۱۸:۱-۷.