بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

ایجاد نقشه پیوستگی ژنتیکی بین‌گونه‌ای گلرنگ با استفاده از نشانگر ملکولی RAPD

پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات کشاورزی

لیلاعقیلی

اساتید راهنما

دکتر آقافخر میرلوحی

دکتر محمّد مهدی مجیدی

۱۳۸۹

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات کشاورزی خانم لیلا عقیلی

تحت عنوان

ایجاد نقشه پیوستگی ژنتیکی بین گونه‌ای گلرنگ با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD

در تاریخ ۱۰/ ۱۳۸۹/۱۲ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهائی قرار گرفت.

۱.	استاد راهنمای پایان نامه	دکتر آقافخر میرلوحی
۲.	استاد راهنمای پایان نامه	دکتر محمّد مهدی مجیدی
۳.	استاد مشاور پایان نامه	دکتر محمّد رضا سبز علیان
٤.	استاد داور	دکتر مهدی رحی‌م ملک
٥.	استاد داور	دکتر مجی‌د طالب‌ی
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده		دکتر

تشکر و قدردانی

سپاس خداوندی را که حمد و ستایش تنها ازآن اوست و او را سزاست

سپاس خدای را که همه بود و وجودمان از اوست و تا او نخواهد هیچ نتوانیم و

سپاس خداوند رحمان را که با نظر لطف و عنایتش این مرحله از زندگی نیز به سرانجام رسید، امید که سرانجامی نیکو و مورد رضایت حضرتش باشد.

و نیز سپاسگزارم

از خانواده و همسر عزیزم که ارزش‌های زندگی را به من آموختند، همواره پشتیبانم بوده‌اند و اکنون نیز وجودشان استوارکننده قدم‌هایم است.

از اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر آقافخر میرلوحی و جناب آقای دکترمحمد مهدی مجیدی، که شاگردی در محضر ایشان بزرگترین افتخار زندگیم بود و جبران قطره ای از زحمات و محبت هایشان برایم قابل تصور نیست، نهایت تشکر و امتنان را دارم.

از استاد ارجمند، دکتر محمد رضا سبزعلیان که مشاورت این پایان نامه را بر عهده داشتند. از اساتید ارجمند، آقایان دکتر مهدی رحیم ملک و دکتر مجید طالبی که زحمت بازخوانی و داوری این پایان‌نامه را تقبل نمودند و همچنین از سایر اساتید فرهیخته گروه اصلاح نباتات، که در محضر ایشان کسب علم نموده‌ام، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنم.

لیلا عقیلی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،ابتکارات و نو آوریهای ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه (رساله) متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

تقدیم به

پدر و مادر مهربان

بهترین های زندگیم

و همسر عزیزم

یار و یاور همیشگی ام

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب ..... هشت
فهرست جداول ..... یازده
فهرست شکل ها ..... سیزده

چکیده ۱

فصل اول مقدمه ۲
۱-۱کلیات واهداف ۲

فصل دوم بررسی منابع ۶
۲-۱ خصوصیات گیاهی ۶
۲-۲ اسامی گلرنگ ۷
۲-۳ منشأ جغرافیایی ۷
۲-۴ طبقه‌بندی جنس *Carthamus* ۸
۲-۵ موارد استفاده از گلرنگ ۹
۲-۶ اهداف بهنژادی گلرنگ ۹
۲-۷ نقشهٔ ژنومی ۹
۲-۷-۱ جمعیت‌های مورد استفاده در نقشه یابی ۱۱
۲-۷-۲ تعیین ژنوتیپ ۱۳
۲-۷-۳ نشانگرهای DNA مبتنی بر دورگ‌گیری اسیدهای نوکلئیک ۱۴
۲-۷-۴ نشانگرهای مبتنی بر PCR ۱۵
۲-۷-۵ تجزیه پیوستگی و ساختن نقشه ژنتیکی ۲۰
۲-۷-۶ آزمون انحراف از تفرق ۲۲
۲-۷-۷ تعیین گروههای پیوستگی ۲۲
۲-۷-۸ تعیین فاصله نقشه و ترتیب لوکوس ها ۲۴
۲-۸ تکمیل نقشه زنتیکی به روش نقشه‌یابی مقایسه‌ای ۲۵
۲-۹ نقشه‌های فیزیکی و ارتباط آنها با نقشه‌های ژنتیکی ۲۶
۲-۱۰ تهیه نقشه پیوستگی ژنتیکی گلرنگ ۲۶

فصل سوم مواد و روش‌ها ۲۸
۳-۱ کاشت والدین و گیاهان F_2 ..... ۲۸
۳-۲ بررسی صفات مورفولوژیک ۲۹
۳-۳ بررسی چند شکلی نشانگر RAPD ۲۹
۳-۳-۱ استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های گیاهی ۲۹

۳-۳-۲ تعیین کیفیت وکمیت DNA با استفاده از ژل آگارز ۳۰
۳-۴ انجام آزمایشات RAPD ۳۰
۳-۴-۱ آغازگرها ۳۱
۳-۴-۲ dNTPs ۳۴
۳-۴-۳ کلرید منیزیم $MgCl_2$ ۳۴
۳-۴-۴ بافر PCR (۱۰ برابر) ۳۴
۳-۴-۵ آنزیم Taq DNA polymerase ۳۴
۳-۵ الکتروفورز فرآورده‌های تکثیر شده ۳۵
۳-۶ محاسبات آماری ۳۵

فصل چهارم نتایج وبحث ۳۶
۴-۱ استخراج DNA ژنومی ۳۶
۴-۲ انتخاب نشانگرهای چندشکل بین والدین ۳۷
۴- ۳ بررسی چندشکلی حاصل از آغازگرهای RAPD ۳۸
۴ -۴ امتیاز دهی نشانگرها در جمعیت نقشه‌یابی ۳۹
۴-۵ بررسی انحراف از تفرق ۴۰
۴-۶ امتیازدهی الگوی نواربندی جمعیت ۴۱
۴-۷ تعیین گروه‌های پیوستگی ۴۲
۴-۸ ترتیب مکان‌های ژنی و تهیه نقشه ۴۳
۴-۹ تلفیق داده‌های حاصل از سه نشانگر EST-SSR، RAPD و نشانگرهای مورفولوژیک ۴۶
۴-۱۰ رسم گروه‌های پیوستگی ۵۰
۴-۱۱ برسی گروه‌های پیوستگی حاصل از نشانگر RAPD ۵۲
۴-۱۲ بررسی همبستگی صفات مورفولوژیک ۵۴

فصل پنجم نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات ۵۶
۵-۱ پیشنهادات ۵۷
منابع ۵۸

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱: لیست آغازگرهای استفاده شده در مطالعه ژنوتیپ‌های گلرنگ ۳۲
ادامه جدول ۳-۱ ..... ۳۳
جدول۳-۲: مواد مورد نیاز برای واکنش PCR در مطالعه ژنوتیپ‌های گلرنگ ۳۴
جدول۳-۳ : زمان و دمای لازم برای سه مرحله مختلف (باز شدن، اتصال و بسط) در هر یک از دورهای حرارتی ۳۵
جدول ۴-۱: لیست آغازگرهای استفاده شده در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ ۳۹
جدول ۴-۲: امتیاز دهی الگوی نواربندی مارکر RAPD در جمعیتF_2 گلرنگ ۴۲
جدول۴-۳: الگوی امتیازدهی نتاج F۲ با استفاده از نشانگر RAPD در نرم افزارMAPMAKER/EXP Ver3.3 ..... ۴۲
جدول ۴-۴: گروه‌بندی نشانگرهای چندشکل RAPD با استفاده از نرم افزار Mapmaker/EXP Ver3/3 ..... ۴۳
جدول۴-۵: ترتیب نشانگرهای گروه پیوستگی ۱ حاصل از نشانگر RAPD در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۴۳
جدول ۴-۶: فاصله بین نشانگرهای گروه پیوستگی ۱ حاصل از نشانگر RAPD با استفاده از نرم افزار Mapmaker/EXP Ver 3.3 ..... ۴۴
جدول ۴-۷: ترتیب نشانگرهای گروه پیوستگی ۲ حاصل از نشانگر RAPD در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۴۵
جدول ۴-۸: فاصله نشانگرهای گروه ۲ حاصل از نشانگرهای RAPD با استفاده از نرم افزار Mapmaker/ EXP Ver 3.3 ۴۵
جدول ۴-۹: ترتیب نشانگرهای گروه پیوستگی ۳ حاصل از نشانگر RAPD در بررسی جمعیت F۲ حاصل زا تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۴۵
جدول ۴-۱۰: فاصله نشانگرهای گروه ۳ حاصل از نشانگر RAPD با استفاده از نرم افزار Mapmaker /Exp Ver 3.3 ..... ۴۶
جدول ۴-۱۱: ترتیب و فاصله نشانگرهای گروه‌های پیوستگی ۴، ۵ و ۶ حاصل از نشانگر RAPD در جمعیت F_2 با استفاده از نرم افزار MAPMAKER/EXE ۴۶
جدول ۴-۱۲: الگوی امتیازدهی صفات مورفولوژیک استفاده شده در نرم افزار Mapmaker/EXE Ver3.3 ..... ۴۷
جدول ۴-۱۳: بررسی صفات مورفولوژیک در والدین تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۴۷
جدول۴-۱۵: ترتیب نشانگرهای گروه ۱ حاصل از سه نشانگرRAPD، EST-SSR و مورفولوژیک در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۴۸
جدول ۴-۱۶: فاصله نشانگرهای گروه یک حاصل از سه نشانگرRAPD ، EST-SSR و مورفولوژیک با استفاده از نرم افزار Mapmaker /Exp Ver3.3 ..... ۴۸
جدول ۴-۱۷: ترتیب نشانگرهای گروه پیوستگی ۳ حاصل از سه نشانگر در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۴۹
جدول ۴-۱۸:فاصله نشانگرهای گروه پیوستگی ۳ حاصل از سه نشا نگر در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۴۹
جدول۴-۱۹: مقایسه گروه‌های پیوستگی حاصل از سه نشانگر RAPD، EST-SSR و مورفولوژیک از نظر تعداد نشانگر و طول بوشش در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۵۰

جدول۴-۲۰: مقا یسه گروه‌های پیوستگی حاصل از نشانگرRAPD از نظر تعداد نشانگر و طول پوشش در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی.....۵۴
جدول ۴-۲۱: آزمون کای اسکور بین صفات مورفولوژیک در سطح احتمال ۵٪.....۵۵

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱: نحوه تفرق نشانگرهای بارز(سمت راست) و نشانگرهای هم بارز(سمت چپ) در ۵ نوع جمعیت ۲۰
شکل ۴-۱: نمونه‌ای از غلظت DNA های استخراج شده از ژنوتیپ‌های گلرنگ ۳۷
شکل ۴-۲: بررسی چندشکلی آغازگرهای RAPD بر روی والدین گلرنگ ۳۸
شکل ۴-۳: الگوی نواری حاصل از آغازگر D9 ..... ۴۰
شکل ۴-۴ الگوی نواری حاصل از آغازگر B6 ..... ۴۰
شکل ۴-۵: گروه‌های پیوستگی ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ حاصل از نشانگر RAPD در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۵۱
شکل ۴-۶: گروه پیوستگی ۱ و ۳ حاصل از سه نشانگر RAPD، EST-SSR و مورفولوژیک در بررسی جمعیت F۲ حاصل از تلاقی گلرنگ اهلی و وحشی ۵۲

چکیده

امروزه نشانگرهای مولکولی مختلفی به وفور در انسان، گیاه، حیوان و ریزسازواره‌ها به منظور مطالعات پایه‌ای و یا کاربردی مورد استفاده قرار می‌گیرند. از کاربردهای مهم نشانگرهای مولکولی می‌توان به استفاده گسترده در انگشت نگاری، اینترگرسیون آلل ها وانتخاب صفات مفید و تهیه نقشه های ژنتیکی در برنامه های به‌نژادی محصولات اشاره کرد. نقشه‌های ژنتیکی با پوشش بالای ژنوم نقش بسزایی در تحقیقات پایه و کاربردی ژنتیک ایفا می‌کنند و از جمله کاربردهای نقشه‌های ژنتیکی می‌توان به مکان‌یابی ژن‌های مورد نظر، تسهیل در اصلاح گیاهان به کمک نشانگر، تهیه نقشه‌ها بر اساس کلون وتعیین مکان ژن‌های کنترل کننده صفات کمی اشاره نمود. پیشرفت های بسیاری در زمینه تهیه نقشه های ژنتیکی بویژه در محصولاتی مثل برنج، ذرت ،سورگوم و گندم وجود دارد ولی در گلرنگ که محصول نواحی خشک است مطالعه زیادی انجام نشده است. پژوهش حاضر به منظور تهیه نقشه پیوستگی ژنتیکی گلرنگ زراعی Carthamus tinctorius L. با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD انجام شد. این تحقیق می تواند آغازی در زمینه تهیه نقشه ژنتیکی گلرنگ باشد. نشانگر RAPD از تکثیر بالایی برخوردار می باشد و نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ردیف DNA ژنوم برای طراحی و ساخت آغازگر ندارد. جمعیت F2 که در این مطالعه استفاده شد شامل ۱۱۷ گیاه از نتاج حاصل از تلاقی بین گونه‌ای گلرنگ زراعی با نام C111 و یک ژنوتیپ وحشی از گونه C. oxyacanthus به نام ISF2 بود. در این پژوهش DNA هرکدام از گیاهان F2 و والدین به روش CTAB استخراج شد و در واکنش PCR به منظور تکثیر باندهای چند شکل مورد استفاده قرار گرفت. از کل ۹۱ آغازگر RAPD آزمایش شده در این تحقیق، ۱۶ آغازگر در بین والدین پلی مورف نشان دادند و برای انجام PCR در بین۱۱۷ نتاج F2 استفاده شدند. این ۱۶ آغازگر ۸۱ نشانگر تکثیر کردند که ۳۲ (۳۹/۵٪) نشانگر انحراف از تفرق ۳:۱ را نشان دادند و مابقی نشانگرها (۴۹ نشانگر) با استفاده از نرم افزار Mapmaker/EXP Ver 3.3 با معیار حداکثر فاصله ۵۰ سانتی مورگان و حداقل LOD برابر ۳ به ۶ گروه لینکاژی به طول ۱۲۲۵/۵ cM شامل ۳۹ نشانگر پیوسته و ۱۰ نشانگر ناپیوسته تفکیک شدند.گروه‌های پیوستگی ۱، ۲ و ۳ دارای بیشترین تعداد نشانگر بودند در حالی که بقیه گروه‌های پیوستگی تعداد نشانگر کمتری داشتند. بیشترین تعداد نشانگر موجود در گروه‌های پیوستگی ۱۹ نشانگر بود که در گروه یک قرار گرفتند. علت تجمع تعداد زیادی نشانگر در این گروه ممکن است در نتیجه تمایل تجمع خوشه‌ای نشانگرRAPD در نواحی خاصی همانند نواحی هتروکروماتینی اطراف سانترومر و نواحی تلومری باشد. نتیجه تجزیه تکمیلی داده‌ها به همراه نشانگرهای مورفولوژیک و EST-SSR نیز شش گروه پیوستگی ایجاد کرد. این مجموعه شامل ۴۱ نشانگر (۵۸/۵ درصد) پیوسته و ۲۹ نشانگر (۴۱/۴ درصد) ناپیوسته به طول ۱۳۵۱/۹ سانتی مورگان از کل ژنوم بود. در نهایت نمای کروموزومی گروه‌های پیوستگی با استفاده از نرم افزار Mapdraw Ver 2.2 ترسیم شد.

کلمات کلیدی: گلرنگ زراعی، گلرنگ وحشی، نقشه پیوستگی ژنتیکی، نشانگر RAPD،

فصل اول
مقدمه

۱-۱کلیات واهداف

بشریت وابسته به دامنه متنوعی، حداقل حدود ۶۰۰۰ گونه، از گیاهان زراعی است که برای مصارف مختلف استفاده می‌شوند. عمده غذای بشر تنها توسط تعداد اندکی از گیاهان اصلی تولید می‌شود که گاهی باعث نادیده گرفته شدن نقش مهم خیلی از گونه‌های غیر اصلی شده است. از ویژگی‌های بارز این گونه‌های غیر اصلی تولید محصول کم و در عین حال سازگاری آنها به شرایط نامساعد رشد می‌باشد[۴].

گلرنگ از جمله گیاهان غیراصلی می‌باشد که از سالیان بسیار گذشته در کشور مصر کشت می‌شده و امروزه در بیش از ۶۰ کشور جهان کشت و کار می‌شود. کشت زراعی گلرنگ در دنیای جدید از سال ۱۸۹۹ و پرورش آن به طور تجاری از سال ۱۹۵۰ شروع شد و در حال حاضر تولید سالیانه آن در جهان حدود ۸۰۰۰۰ تن تخمین زده می‌شود[۱۵].

تولیدکنندگان عمده گلرنگ در جهان هند، آمریکا و مکزیک می‌باشند و به منظور استحصال روغن این گیاه را کشت می‌کنند و به طور مشترک ٪۷۰ تولید جهانی را بر عهده دارند. آمریکا اصلی‌ترین صادرکننده و ژاپن و کشورهای اروپایی عمده‌ترین واردکننده روغن گلرنگ هستند [۱۵].

سازگاری وسیع گلرنگ به اقلیم‌های مختلف و تحمل شرایط نامساعد ایجاب می‌نماید که مطالعات

به نژادی و به زراعی گسترده‌ای روی آن انجام گیرد [۱۳]. از جمله امتیازهای ارزشمند گیاه گلرنگ در کشور ما بومی بودن و سازگاری آن است، بنابراین ضرورت دارد که مطالعات بیشتری برای شناخت این گیاه انجام گیرد.

با وجود سازگاری وسیع این گیاه به شرایط محیطی نامساعد، کشت گلرنگ در جهان با یکسری محدودیت‌ها مواجه است که از مهمترین آنها عملکرد پایین در واحد سطح، شاخص برداشت کم، میزان کم روغن بذر، حساسیت زیاد ارقام موجود به بیماری‌های برگی، پوسیدگی ریشه، پژمردگی، شته‌ها وبعضی از تنش‌های غیر زنده می‌باشد.

عملکرد از جمله صفات کمی است و مطالعات ژنتیکی صفات کمی به دلیل نقش عوامل متعدد ژنتیکی و آثار متقابل آنها با محیط در گذشته امری مشکل به نظر می‌رسید. با گسترش روش‌های مبتنی بر کاربرد نشانگرهای مولکولی، امروزه نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی با استفاده از نقشه‌های پیوستگی نشانگرهای مولکولی و جمعیت‌های ژنتیکی مناسب یکی از زمینه‌های اساسی تحقیقات است. همچنین این نقشه‌های ژنتیکی برای ایزوله نمودن و انتقال ژن‌های مرتبط با صفات مهم از جمله مقاومت به بیماری‌ها نیز کاربرد دارند.

نواحی ژنومی کنترل کننده صفات چند ژنی یا کمی که ممکن است شامل یک یا چند ژن پیوسته باشند، بنام مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (QTLs) نامیده می‌شوند. مکان‌یابی این ژن‌ها بر اساس پیوستگی بین آنها و نشانگرهای مولکولی است و تجزیه QTL شامل مکان‌یابی و تعیین اثر و سهم QTL در بروز فنوتیپی صفت است . هدف از مکان‌یابی QTLها، تعیین و تشخیص مکان‌هایی در ژنوم است که رابطه معنی داری با تغییرات فنوتیپی صفت کمی مورد مطالعه دارند و تحقق این امر پیشنیاز انتخاب به کمک نشانگر (MAS) برای صفت مورد گزینش است[۳۵ و ۵۲].

کشف و توسعه‌نشانگرهای ملکولی برای تشخیص و بکارگیری چندشکلی‌های DNA یکی از پیشرفت‌های بسیار بزرگ در ژنتیک ملکولی بوده است. در سال‌های اخیر از نشانگرهای مولکولی RAPD ، AFLP، RFLP، SSR و ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی، روابط خویشاوندی، مکان‌یابی ژن‌ها و ایجاد نقشه‌های ژنتیکی استفاده شده است.

باتوجه به بررسی‌های انجام شده به نظر می‌رسد که اگر هیچ گونه اطلاعات قبلی درمورد توالی DNA و ژنوم گیاهی در اختیار نباشد با استفاده از مارکرRAPD می‌توان به تهیه نقشه ژنتیکی آن گیاه پرداخت [۱۴] . گلرنگ نیز از جمله گیاهانی است که هیچگونه اطلاعات قبلی در مورد توالی DNA آن دردسترس نیست وتاکنون نیز به جز دو مورد اطلاعاتی در زمینه تهیه نقشه ژنتیکی آن گزارش نشده است . نظر به اهمیت این گیاه در میان گیاهان دانه روغنی و سازگازی بالای آن به شرایط اقلیمی کشور،

پژوهش زیر به منظور تهیه نقشه ژنتیکی و تـدوین مطالعـات اصـلاحی انجـام شـد. مهمتـرین اهـداف ایـن پژوهش عبارت بود از:

۱- تعیین گروه‌های پیوستگی ژنوم گلرنگ با استفاده ازنشانگر مولکولی RAPD

۲ - بررسی امکان پیداکردن نشانگر اطلاع دهنده (Informative) مرتبط با صفات موفولوژیک

۳- بررسی ارتباط گروههای پیوستگی مولکولی با صفات مورفولوژیک گلرنگ

فصل دوم
بررسی منابع

۲-۱ خصوصیات گیاهی

گلرنگ زراعی، کافشه یا کاجیره با نام علمی *Carthamus tinctorius* یکی از گونه‌های خانواده مرکبه (Asteraceae) و گیاهی دانه روغنی، یکساله، پر شاخ و برگ با ریشه‌ای راست، منشعب و قوی با ریشه‌های فرعی فراوانی شناخته شده است. در خاک‌های مرطوب و غنی از مواد غذایی، ریشه‌ها می‌توانند تا عمق سه متر نفوذ کنند و آب و مواد غذایی را از اعماق خاک جذب نماید. به همین دلیل این گیاه نسبت به سایر گیاهان به خشکی مقاوم‌تر است [۳ و ۳۰]. ساقه اصلی گلرنگ مستقیم، استوانه‌ای شکل، محکم، صاف و بدون کرک است [۶۳]. برگ‌ها بیضی شکل، بدون دمبرگ و کرک، سبز تیره و آرایشی مارپیچی بر روی ساقه دارند ولی اندازه و شکل آنها در گونه‌ها و ارقام مختلف متفاوت است. در این گیاه غالباً برگ‌های پایینی ساقه اندازه بزرگتری دارند و بدون خار می‌باشند. برگ‌های بالایی گیاه بسته به گونه یا ژنوتیپ ممکن است خاردار یا بدون خار باشند. صفت خاردار بودن از شرایط محیطی تأثیر نمی‌پذیرد [۵۶]. گل آذین این گیاه بصورت یک طبق متراکم به شکل مخروطی در انتهای ساقه اصلی و هر ساقه فرعی به وجود می‌آید. جام گل از پنج گلبرگ به هم پیوسته تشکیل شده است که لوله باریکی را تشکیل داده و در انتها بصورت پنج لبه در می‌آیند. تعداد پرچم‌ها پنج عدد می‌باشد که در ناحیه میله مستقل می‌باشند و در قسمت بساک به یکدیگر متصل‌اند و به صورت لوله درآمده‌اند که کلاله را در بر می‌گیرد.

تخمدان زیرین گلرنگ تک برچه‌ای و حاوی یک تخمک است. گل‌ها به دلیل اینکه زودتر از پرچم‌ها می‌رسند پروتواندرس[1] می‌باشند، اما از آنجایی که دانه‌های گرده گل‌های مجاور واقع در یک طبق می‌توانند همدیگر را بارور سازند، عملاً این گیاه از نظر ژنتیکی خودگشن است. در صد دگرگشنی در گیاه گلرنگ به فعالیت حشرات بستگی دارد که مقدار آن ۸ تا ۱۰ درصد می‌باشد [۳۰]. رنگ گل در گونه اهلی ممکن است زرد، نارنجی یا قرمز باشد. گلرنگ‌های بومی ایران دارای گل قرمز هستند ولی ارقام خارجی بیشتر به رنگ زرد یا نارنجی‌اند. همچنین گلرنگ‌هایی با گل‌های سفید نیز وجود دارند [۶۴ و ۸۰]. میوه این گیاه همانند آفتابگردان فندقه بوده و دارای دو لپه می‌باشد که ذخیره سازی روغن عمدتاً در لپه‌ها صورت می‌گیرد [۳۰ و۵۶].

گلرنگ دارای دامنه‌سازگاری وسیعی می‌باشد، به طوری که از عرض جغرافیایی ۵۰ درجه شمالی تا ۴۰ درجه جنوبی و از ارتفاع صفر تا نزدیک به ۳۰۰۰ متری از سطح دریا کشت می‌شود. در مناطق با اقلیم سرد به دلیل آسیب دیدن گیاه از سرما، عملکرد دانه و روغن کاهش می‌یابد [۳۰].

۲-۲ اسامی گلرنگ

مصطلح ترین نام گلرنگ "Kusum" می‌باشد که از کلمه سانسکریت "Kusumbhe" انشقاق یافته است و در هندوستان و پاکستان بکار می‌رود. در چین به این گیاه "Honghue" به معنی "گل قرمز" اطلاق می‌گردد. این گیاه در زبان فارسی علاوه بر گلرنگ اسامی متعدد دیگری نیز دارد از جمله: کافشه، کوشه، کاجیره، کاچیره، کاژیره و کازیره. در زبان انگلیسی Safflower و در زبان فرانسه به Carthame شناخته می‌شود. در زبان عربی اسامی قرطوم، کوشوم و عصفر نیز گزارش شده است. گلرنگ در گوشه و کنار دنیا با اسامی محلی دیگری نیز شناخته می‌شود [۳۰].

۲-۳ منشأ جغرافیایی

گلرنگ از گیاهان دنیای قدیم است که در منطقه وسیعی از ژاپن تا شرق آفریقا مورد کاشت بوده است. سابقه کشت گلرنگ در مصر به حدود ۴۰۰۰ و در چین به ۲۲۰۰ سال پیش می‌رسد. به نظر می‌رسد که گیاه گلرنگ در منطقه وسیعی از شمال هند تا خاورمیانه، اهلی گردیده است [۳ و ۵۴]. کشت گلرنگ در ایران، افغانستان، پاکستان، هند و بسیاری از مناطق دنیای قدیم قدمتی دیرینه دارد و در حال حاضر نیز به طور گسترده در هند، خاورنزدیک، خاورمیانه و چین کشت می‌شود. به خاطر اهمیت آن از نظر روغنی و صنعتی، از حدود نیم قرن پیش، کشت گلرنگ به اروپا، استرالیا و آمریکا کشیده شده است [۹۲].

---

[1] Protondrous

۲-۴ طبقه‌بندی جنس *Carthamus*

جنس Carthamus شامل ۱۵ گونه است که *Carthamus tinctorius* L. تنها گونه‌زراعی آن می‌باشد. بیشتر گونه‌های موجود در این جنس دیپلوئید بوده ولی سه گونه *C. lanatus* L.,*C. creticus* L.,و *C. turkestanicus* Popov گونه‌هایی هستند که پلی‌پلوئید می‌باشند. در مطالعات انجام شده گونه‌های مختلف گلرنگ را بر اساس تعداد کروموزوم به پنج دسته تقسیم کرده‌اند که گونه‌های گروه اول تا پنجم به ترتیب دارای ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۲۲، ۳۲ جفت کروموزوم هستند [۷ و ۱۲]. گونه زراعی گلرنگ در گروه ۱۲ جفت کروموزومی (۲n=2x=۲۴) جای دارد [۳۷ و ۴۴]. تنها یک گونه با ۱۱ جفت کروموزوم وجود دارد که در لیبی می‌روید (*C. divaricatus* Beguinot & Vacc.). در یکی از جدیدترین طبقه‌بندی‌های موجود، بر اساس اطلاعات حاصل از مورفولوژی، جغرافیای زیستی، سیتولوژی و سازگاری‌در تلاقی‌های بین‌گونه‌ای، این جنس به سه گروه تقسیم شد [۶۷]. در این طبقه‌بندی، در گروه اول گونه‌هایی قرار می‌گیرند که دارای ۱۲ جفت کروموزوم (n=۱۲) هستند. این گونه‌ها دارای پراکنش متفاوت و عبارتند از:

C. tinctorius (که در بسیاری از مناطق با اقلیم خشک و نیمه خشک وجود دارد)

C. palaestinus Eig. (در بیابان‌های جنوب فلسطین اشغالی و غرب عراق یافت می‌شود)

C. persicus Willd (در سوریه، لبنان و ترکیه می‌روید)

C. oxyacanthus Bieb. (در پاکستان، شمال غربی هند و غرب عراق وجود دارد)

C. gypsicola، C. curdicus Hanelt

به غیر از دو گونه‌آخر (*C. curdicus* و *C. gypsicola*)، دیگر گونه‌های این گروه با یکدیگر تلاقی‌پذیر بوده و نتاجی بارور تولید می‌کنند [۳۰].

گروه‌دوم این طبقه بندی شامل گونه‌های زیر می‌باشد:

C. boissieri Halácsy (در نواحی خاورمیانه، جنوب شرقی اروپا و شمال آفریقا یافت می‌شود)

C. dentatus (Forssk.)Vahl

C. divaricatus Beguinot & Vacc. (محدود به کشور لیبی است)

C. glaucus Bieb (شرق و شمال دریای مدیترانه می‌روید)

C. leucocaulos Sibth. et Sm. (شبیه گونه *C. nitidus*)

C. tenuis (Boiss. & Bl.) Bornm. [در فلسطین اشغالی با ۱۰ یا ۱۱ جفت کروموزوم(۱۱و۱۰ یافت می‌شود=n)]گروه سوم این طبقه بندی شامل گونه‌های زیر می‌باشد:

C. creticus L. (در نواحی شرق مدیترانه، شمال آفریقا و اسپانیا وجود دارد)

۲-۵ موارد استفاده از گلرنگ

با اینکه گلرنگ یک گیاه دانه روغنی محسوب می‌شود ولی از این گیاه در موارد دیگری مانند تولید رنگ‌های طبیعی، تغذیه‌پرندگان و دام‌ها نیز استفاده می گردد از گلبرگ‌های گلرنگ در طباخی و شیرینی‌پزی و گاه برای اختلاط با زعفران استفاده می‌شود که از این لحاظ ارقام دارای گل قرمز ترجیح داده می‌شوند. در اروپا و خاورمیانه، به علت قیمت بالای زعفران، گلرنگ جایگزین بسیار ارزانتری برای زعفران بوده و به همین خاطر آن را تحت نام‌های زعفران تقلبی، زعفران آمریکایی و زعفران خاردار نامگذاری کرده اند [۵۰و۸۰]. از این گیاه جهت درمان بیماری‌های قلبی و عروقی، بیماری‌های تنفسی و گوارشی، ضد تومور، آنتی اکسیدان و آرام کننده‌اعصاب و غیره استفاده می‌شود[۳ و ۳۸]. امروزه هدف اصلی تولید گلرنگ، استخراج روغن از دانه آن است. ارقام گلرنگ با روغن قابل خوردن بالاترین کیفیت اسیدهای چرب غیراشباع از جمله اسید اولئیک و اسید لینولئیک را در مقایسه با دیگر گیاهان روغنی دارند[۱۱، ۱۵ و ۳۱]. روغن این گیاه چهار اسید چرب اولئیک، لینولئیک، پالمیتیک و استئاریک را به ترتیب حدود ۱۴، ۷۴، ۶/۵ و ۲ درصد دارد که در مجموع حدود ۹۶ تا ۹۹ درصد روغن گلرنگ را تشکیل می‌دهند[۳۹].

پس از استخراج روغن گلرنگ، کنجاله حاصل از دانه (حاوی ۲۳ درصد پروتئین و ۳۵ درصد فیبر) به عنوان مکمل مهم پروتئین گیاهی به مصرف تغذیه دام و طیور می‌رسد. کنجاله حاصل از دانه گلرنگ نسبت به کنجاله حاصل از دانه سویا به دلیل اثری که بر افزایش وزن دارد، از برتری خاصی برخوردار می‌باشد [۳]

۲-۶ اهداف بهنژادی گلرنگ

مهمترین اهداف بهنژادی گلرنگ افزایش عملکرد، افزایش درصد روعن و بهبود کیفیت آن و مقاومت به آفات و بیماری‌ها می‌باشند.که عملکرد دانه در گلرنگ به تعداد دانه در غوزه، تعداد غوزه در بوته و اندازه بذر بستگی دارد. در سال ۱۹۷۱، اشری[۱۸] وایبل و دریکسل [۱۶] در سال ۱۹۷۶ تعداد غوزه در بوته را به عنوان مهمترین بخش عملکرد در گلرنگ معرفی کردند. به منظور رسیدن به این اهداف نقشه‌های ژنتیک با تعیین جایگاه ژنی و کروموزومی ژن‌های تعیین کنندهٔ این صفات مطلوب بیشترین کاربرد را دارند.

۲-۷ نقشهٔ ژنومی

نقشهٔ ژنومی، آمیزه ای از مفاهیم ژنتیک کلاسیک، روش‌های بیومتری و بیولوژی مولکولی است و

ابزار قدرتمندی برای مطالعات ژنتیکی گیاهان می‌باشد. نقشه ژنومی ریشه در تجزیه پیوستگی ژنتیک کلاسیک دارد، اما پیشرفت روش‌های مولکولی تهیه نقشه ژنتیکی را برای ژن‌های کنترل کننده صفات کیفی و کمّی آسان کرده است. تهیه نقشه وتوالی‌یابی ژنوم گیاهان به درک عمل، تنظیم و بیان ژن‌ها کمک می‌نماید. تجزیه پیوستگی یکی از روش‌های اساسی در ژنتیک مولکولی می‌باشد و نقشه پیوستگی نمایش گرافیکی آرایش مکان‌های ژنی است[۴۵]. تجزیه ژنتیکی مولکولی مستلزم تعیین جایگاه نشانگرها روی نقشه ژنتیکی است[۳۲]. چنین نقشه‌هایی تحت عنوان نقشه‌های چهارچوب[1] یا نقشه‌های پایه[2] نامیده می‌شوند. این نقشه‌ها مشخص کننده محدوده‌ای از محل استقرار نشانگرها و ژن‌ها می‌باشند و به عنوان شاخصی برای مقایسه ساختارهای کروموزومی در گونه‌های دور و نزدیک حائز اهمیت هستند. از کاربردهای عمده در نقشه‌های ژنتیکی می‌توان به نمایش آرایش نشانگرهای ژنتیکی در نزدیکی ژن هدف، همسانه‌سازی براساس نقشه[3]، مکان‌یابی ژن‌های کنترل کننده صفات کمّی[4] و هرمی‌کردن مکان‌های ژنی مطلوب اشاره نمود.[۳۱]. علاوه بر این، محققین ژنتیک بر اساس اطلاعات حاصل از تفرق ژنتیکی نشانگرهای مولکولی در جمعیت‌های مختلف اقدام به ادغام نقشه‌های ژنتیکی و تهیه نقشه اجماعی کرده اند[۷۲ و۸۷].

نقشه‌های پیوستگی بر مبنای استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک وآیزوزایم برای برنج، ذرت، گندم، جو و سایر گیاهان زراعی تهیه شده است. اگرچه اطلاعات موجود در این نقشه‌های اولیه برای پی بردن به مکان ژن‌های کنترل کننده صفات مورد استفاده قرار گرفته است، اما کاربرد آنها به خاطر کم بودن تعداد این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی گیاهان زراعی محدود می‌باشد. علاوه بر این بیان نشانگرهای مورفولوژیک و آیزوزایم تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند. این محدودیت‌ها سبب شده تا از نشانگرهای DNA در تهیه نقشه ژنومی استفاده شود[۱، ۱۰و ۲۲]. اولین نقشه ژنومی در گیاهان با استفاده از نشانگرهای RFLP[5] در ذرت و به دنبال آن در برنج و آرابیدوپسیس[6] گزارش شده است. برای سایر گیاهان مهم اقتصادی از جمله گندم و جو، سیب زمینی، آفتابگردان، نخود، عدس، چاودار، پنبه، سویا، سورگوم، تنباکو، شبدر، هویج، نیشکر، چغندرقند، قهوه و انگور نیز نقشه‌های ژنتیکی براساس نشانگرهای DNA گزارش شده‌اند[۲۴، ۲۵، ۲۸، ۵۷، ۷۹، ۸۴، ۸۹].

وجود جمعیت ژنتیکی در حال تفرق برای صفات مورد نظر، نشانگرهای ژنتیکی مطلوب برای غربال

---

[1] Framework map
[2] Base map
[3] Map Based Cloning
[4] QTL mapping
[5] Restriction Fragment Length Polymorphism
[6] Arabidopsis