دانشکده کشاورزی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

در رشته بیوتکنولوژی

پایان‌نامه:

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

بررسی پلی مورفیسم ژنتیکی بین ارقام شاخص گلرنگ ایران و دو رقم شاخص خارجی با استفاده از نشانگر RAPD

مولف:

مریم رحیمی

استاد راهنما:

آقای دکتر سید حسن مرعشی

استاد راهنمای دوم:

آقای دکتر غلامرضا بخشی خانیکی

استاد مشاور:

آقای دکتر محمد فارسی

اسفند 1388

چکیده

به منظور بررسی پلی مورفیسم ژنتیکی بین ارقام داخلی و خارجی گلرنگ با استفاده از نشانگر **RAPD**[1] تعداد 20 رقم مورد آزمایش قرار گرفت. در این آزمایش از 17 آغازگر[2] 10 نوکلئوتیدی استفاده شد. و در نهایت تعداد 279 باند قابل امتیاز دهی ایجاد شد که 256 باند در محدوده‌ای بین100و 3000 جفت باز را شامل می‌شد. دندروگرام های حاصل از روش **UPGMA**[3] ژنوتیپ ها را به سه گروه اصلی تقسیم کرد. که گروه یک شامل دو رقم خارجی و 2 رقم بومی داخلی و یک رقم اصلاح شده بود. گروه دو ارقام داخلی بود که شامل ارقام زراعی محلی و ارقام وحشی بود. گروه سوم نیز از دو رقم اصلاح شده ایرانی اصفهان و رقم KW4 تشکیل شده بود. بیشترین فاصله ژنتیکی بین ارقام داخلی و خارجی (863/.) مشاهده شد. ولی در اکثر ارقام داخلی فاصله ژنتیکی کمی (0/2419) دیده شد، که ممکن است به علت وجود منشا و اجداد مشترک در مورد این ارقام باشد. وجود فاصله زیاد (7578/.) در برخی ارقام وحشی و اصلاح شده داخلی ایران نشان‌دهنده پتانسیل بالای ذخایر ژنتیکی داخلی در تولید هیبریدهای مناسب می باشد. نتایج نشان می‌دهد در حالیکه بین فاصله جغرافیایی و ژنتیکی در ارقام خارجی همبستگی وجود دارد ولی این همبستگی در ارقام داخلی مشاهده نمی‌شود.

واژگان کلیدی: گلرنگ، تنوع ژنتیکی، RAPD، PCR

1-Amplifid Fragment Length DNA [1]
2 -Primer [2]
3 -Unweighted pair – group method with arithmetic averages [3]

فهرست

عنوان	صفحه
فصل اول: مقدمه	
مقدمه	1
فصل دوم: بررسی منابع	
2-1- گلرنگ	7
2-1-1- تاریخچه	9
2-1-2- گیاهشناسی	11
2-1-3- موارد استفاده	13
2-3- اهمیت ارزیابی تنوع ژنتیکی	14
2-3- کاربردنشانگرها در بررسی تنوع ژنتیکی	16
2-3-1- نشانگرهای مورفولوژیکی	16
2-3-2- نشانگرهای بیوشیمیایی	17
2-3-3- نشانگرهای مولکولی	18
2-4- بررسی تنوع ژنتیکی	24
2-5- روشهای آماری بررسی تنوع ژنتیکی	25
2-6- معیارهای فاصله یا شباهت ژنتیکی	26
2-7- انواع نشانگرهای مولکولی بررسی تنوع ژنتیکی گلرنک	27
2-7-1نشانگرRFLP	27

22-7-3- نشانگر ISSR 28

2 -7-4- روشهای تلفیقی 29

-7-5- نشانگر RAPD 29

فصل سوم: مواد و روشها

3-1- گیاهان مورد استفاده 36

3-2- استخراج DNA 37

3-3- ارزیابی کمی و کیفی نمونه‌های DNA 38

3-4- شرایط واکنشهای PCR-RAPD 39

3-5- آنالیز داده‌های RAPD 40

3-6- فاصله ژنتیکی و تنوع ژنتیکی 40

فصل چهارم: نتیجه و بحث

4-1- نتایج حاصل ازاستخراج DNA 43

4-2- آنالیزمولکولی RAPD 43

4-3- فاصله ژنتیکی بین توده‌های مناطق مختلف 46

4-4- تجزیه خوشه‌ای 46

4-5- تجزیه به مولفه‌های اصلی 49

4-6- بحث 51

4-7- پیشنهادات 52

فصل پنجم: فهرست منابع 54

خلاصه انگلیسی **64**

پیوست 65

فهرست جداول

جدول 3-1- ارقام گلرنگ استفاده شده در واکنشهای RAPD 43

جدول 3-2- توالی آغازگرهای مورد استفاده در واکنشهای RAPD 49

فهرست اشکال و نمودارها

4-1- باندهای حاصل از DNA ژنومی نمونه‌های گیاهی بر روی ژل آگارز 51

4-2- عکس ژل حاصل از آغازگر ub96 و 20 نمونه گلرنگ 52

4-3- دندروگرام ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA 54

4-4- دندروگرام ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA 54

4-5- دندروگرام ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA 55

4-6- نمودار دوبعدی حاصل ار PCA 57

فصل اول :

مقدمه

مقدمه

گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) یکی از گیاهان مناطق نیمه خشک هند، ایران، مصر و سایر کشورهای مدیترانه‌ای است. این گیاه نه تنها برای روغن بلکه برای رنگ نارنجی که از گل آن بدست می آید کشت می‌شده است (4).

روغن یکی از مواد غذایی اصلی مورد نیاز بشر است و حدود 20 درصد کالری مورد نیاز انسان بسته به رژیم‌های غذایی متفاوت توسط روغن تأمین می‌شود. افزایش تقاضای روغن گیاهی در بازارهای جهانی و به دنبال آن افزایش قیمت آن، باعث فشارهای اقتصادی به کشورهای وارد کننده روغن از جمله ایران گردیده است. بنابراین با توجه به افزایش جمعیت و مصرف سرانه روغن افزایش سطح زیر کشت دانه‌های روغنی و افزایش عملکرد آنها برای کاهش وابستگی به کشورهای دیگر ضروری است. .در حال حاضر از کل روغن مصرفی کشور فقط حدود 7 درصد آن در داخل تولید و 93 درصد آن از خارج وارد می‌شود (11).

در بین دانه‌های روغنی، گلرنگ با داشتن حدود 78 درصد اسیدهای چرب غیر اشباع از کیفیت بسیار مطلوبی برخوردار است. این گیاه جدا از اینکه به عنوان یک گیاه روغنی شناخته می-شود، دارای خواص داروئی نیز هست. به دلیل قابلیت‌هائی نظیر قدرت سازگاری بالا، مقاومت به سرما، شوری و قلیائی بودن بالای خاک و موارد مصرف متعدد در بسیاری کشورها به طور گسترده کشت می‌شود. وجود توده های محلی و انواع تیپ های وحشی این گیاه که در سراسر ایران پراکنده‌اند نشان از سازگاری بالای گلرنگ با شرایط آب و هوایی مناطق وسیعی از کشور ما دارد (8).

در گذشته کشت گلرنگ بیشتر به منظور تهیه رنگ و استفاده از آن در رنگرزی بوده است ولی امروزه علاوه بر استفاده از گلچه‌های آن در رنگرزی از دانه آن نیز برای تهیهٔ روغن استفاده می‌شود (1). میزان روغن قابل استخراج دانه گلرنگ در شرایط مساعد بسته به رقم تا 45 درصد می‌رسد (15).

افزایش تقاضا برای روغن نباتی در بازارهای جهانی و بالطبع افزایش قیمت برای کشورهای تولید کننده، صادر کننده، فشار ناشی از هزینه خرید و واردات در کشورهای مصرف کننده، روند افزایش مصرف سرانه روغن نباتی و افزایش واردات آن، از جمله عواملی هستند که اهمیت توسعه کشت دانه‌های روغنی و گسترش برنامه های علمی و تحقیقاتی را در این زمینه بیش از پیش روشن می سازد. گلرنگ به عنوان گیاهی که بومی ایران است می تواند از اهمیت خاصی در پروژه-های اصلاحی دانه های روغنی کشور برخوردار باشد (4).

در واقع بهبود وضع ژنتیکی یک گیاه وابسته به وجود و وسعت تنوع ژنتیکی آن است. برنامه-های اصلاحی فعلی و آینده نه تنها نیازمند دسترسی به این تنوع‌ها می‌باشد بلکه وابسته به نگهداری و مدیریت صحیح، حفظ و استفاده از آن‌ها نیز هست (46).

ارزیابی جمعیت‌های زراعی و وحشی در نگهداری و بـه کـارگیری شایسـته ژرم پلاسـم‌هـای مناسب ضروری به نظر می‌رسـد (46). بررسـی تنـوع ژنتیکـی، متخصصـین اصـلاح نباتـات را در شناسایی ظرفیت ژنتیکی صفات مرتبط با اهداف اصلاحی مهم یاری می‌نماید و مطالعه الگوپـذیری و تبعیت تنوع ژنتیکی از تنوع جغرافیایی و اقلیمی ژنوتیپ‌ها، نشاندهنده سازگاری‌های احتمالی آن‌ها با محیط‌های متفاوت می‌باشد (87)

یکی از کاربردهای عملی روش‌های زیست‌شناسی مولکولی گیاهی استفاده از آنها در تشخیص گیاهان می‌باشد. معمولاً تعیین و تأیید هویت گیاه یا فراورده حاصل از آن اولین گام در مطالعه یا

استفاده از آن گیاه است. تشخیص گیاهان یک گونه یا واریته خاص از طریق تفاوت‌های موجود در خصوصیات ژنتیکی آن‌ها با سایر گیاهان امکان‌پذیر است. روش‌هایی که برای تشخیص گیاهان بکار می‌روند چنان طراحی شده‌اند که بتوان با استفاده از آنها توالی خاصی از DNA یا ترکیبی از توالی‌ها را شناسایی نمود که هویت گیاه را معین می‌کنند. البته برای این کار الزامی به تعیین توالی DNA نیست بلکه شناسایی بر اساس دو رگه‌سازی اسیدهای نوکلئیک و یا واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR) انجام می‌شود (65). آزمون‌های مبتنی بر PCR معمولاً از نظر سرعت و حساسیت نسبت به سایر روش‌های مولکولی از مزیت بیشتری برخوردار هستند. از این نشانگرها به طور گسترده‌ای جهت شناسایی ژنوتیپ ارقام و گونه‌ها استفاده شده است. روش‌های RAPD[4]، RFLP[5]، SSR[6] و ISSR[7] که مبتنی بر PCR هستند را می‌توان به آسانی جهت تعیین تنوع استفاده نمود (28، 25، 3)

در سال‌های گذشته پیشرفت‌های تکنولوژیکی در تکنیک‌های DNA امکان طبقه‌بندی دقیق‌تر را فراهم ساخته است. از میان تکنیک‌های موجود، تکنیک RAPD با وجود محدودیت‌هایی که در استفاده و تفسیر نتایج آن وجود دارد (81)، به صورت موفقیت‌آمیزی برای هیبریدها و گونه‌های کاملاً وابسته پذیرفته شده است (76، 73، 66، 52). در مطالعات RAPD، از آغازگرهای کوتاه و تصادفی که معمولا 10 و یا بیشتر از 10 نوکلئوتید طول دارند، استفاده می‌شود. این آغازگرها به طور تصادفی به نقاط مختلف ژنوم اتصال یافته و چندین مکان ژنی را تکثیر می‌کنند. روش RAPD ساده، سریع و نسبتاً ارزان است (77، 43، 8).

1-Random Amplified PolymorficDNA[4]
2-Random Fragment Lenthe Polymorphism [5]
3- Simple Sequence Repeats. [6]
4- Inter- Simple Sequence Repeats [7]

هدف از انجام آزمایش: مطالعه تنوع ژنتیکی و توارث صفات جمعیت‌های گلرنگ از طریق روش‌های مولکولی در مقایسه با سایر محصولات زراعی، اندک بوده و اکثراً بر اساس مطالعه مورفولوژیکی و معدودی نیز بر اساس مطالعات بیوشیمیایی بوده است (92، 82، 31، 26). صفات مورفولوژیکی مبتنی بر اندازه‌گیری صفات در سطح مزرعه یا گلخانه بوده که تحت تاثیر عوامل محیطی و شرایط رشد گیاه می‌باشند که نیاز به تکرار دارند و هزینه آزمایشات مزرعه بالا و وقت گیر است (42). همچنین در مواردی دیده شده است که تغییر در توالی‌های نوکلئوتیدی ایجاد تغییردر فنوتیپ گیاه نکرده است (48). روش‌های ایزوزایم و پروتئین‌های ذخیره‌ای نیز دارای محدودیت بوده و نمی‌توانند تنوع موجود در بین ژنوتیپ‌های خویشاوند را به خوبی نشان می‌دهند (83، 81، 35). به علاوه ایزوزایم‌ها ممکن است تحت تأثیر محیط، بافت و دوره رشد گیاهی باشند (45، 35). نشانگرهای مبتنی بر DNA روش‌هایی هستند که می‌توانند بر این مشکلات غلبه کنند و همچنین اطلاعات بیشتری را برای تحقیق فراهم نمایند. این نشانگرها بر خلاف سایر نشانگرها (مورفولوژیکی) ژنوتیپ‌ها را توصیف می‌کنند (89). نشانگرهای DNA در مقایسه با روشهای دیگر تجزیه تنوع ژنتیکی مثل ایزوزایم‌ها و صفات مورفولوژیکی، دارای حساسیت بیشتر و تکرارپذیر بوده و دارای عمومیت بیشتری هستند (75). نشانگر RFLP برای مطالعه مستقیم DNA ارائه شد ولی به کارگیری آن نیز دارای محدودیت‌های همانند استفاده از مواد رادیو اکتیو، هزینه بالا، زمان‌بر بودن، مقدار کم چند شکلی، نیاز به همسانه‌سازی و نیاز به اطلاعات از توالی DNA موجود مورد آزمایش و غیره است. برای رفع این مشکلات نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از جمله RAPD معرفی شد (93، 92، 85، 75).

با توجه به ضرورت‌هایی که برای تحقیق بر روی گلرنگ به عنوان گیاه بومی ایران ذکر شد و با توجه به کار کمی که بر روی این گیاه در زمینه مولکولی انجام شده است (92، 82، 31، 26)، در

این تحقیق به بررسی تنوع ژنتیکی چند رقم گلرنگ داخلی و 2 رقم گلرنگ خارجی با استفاده از نشانگر RAPD پرداخته شد. این تحقیق و تحقیقات مشابه می‌تواند در انتخاب والدین مناسب برای تلاقی‌های مربوط به اصلاح این گیاه و تولید هیبرید مورد استفاده قرار گیرد.

فصل دوم :

بررسی منابع

2-1- گلرنگ

گلرنگ، *Carthamus tinctorius L*، عضوی از خانواده Asteraceae است. که بیست و پنج گونه مهم دارد. این گیاه از اسپانیا، آفریقای شمالی و آسیای غربی به هند رفته است (29).

بنا به ارزیابی‌های جدید، بر اساس رابطه بسیار نزدیک موجود میان گونه‌های وحشی، موطن احتمالی گلرنگ، منطقه‌ای محصور میان مدیترانه شرقی و خلیج فارس است. گلرنگ هنوز در قطعه زمینهای کوچک، در حاشیه مزارع، یا اطراف خانه‌های رعیتی در بخش بزرگتر آسیای گرمسیری، آفریقا، شوروی، چین و هر نقطه ای در سرتاسر جهان که اسپانیائی‌ها یا آسیائی‌ها ساکن شده باشند، یافت می‌شود (29).

گلرنگ از قدیم‌الایام در خراسان، آذربایجان و اصفهان به صورت زراعت فرعی و با هدف تهیه رنگ از گل آن کشت می‌شده است. چون ماده رنگی کارتامین در گلبرگ آن زیاد است از آن به عنوان رنگ غذا و رنگ‌آمیزی پارچه و ابریشم استفاده می‌شود. گل گلرنگ در تهیه زعفران تقلبی نیز اسقاده می‌شود. گلچه‌های لوله ای شکل گلرنگ معمولا به عنوان زعفران واقعی یا یک جانشین کم ارزش‌تر قلمداد می‌شود. امروزه هدف اصلی تولید گلرنگ استخراج روغن از دانه آن است. درصد روغن دانه در بعضی ارقام و در شرایط مساعد تولید، تا 45 درصد می‌رسد (15). حداکثر سطح زیر کشت آن در ایران طی سال‌های گذشته حدود 10000 هکتار با میانگین عملکرد حدود 700 کیلوگرم در هکتار بوده است (15). گلرنگ تقریباً در 60 کشور جهان کشت می‌شود و سطح زیر کشت آن در دنیا در سال 2005 برابر با یک میلیون و سیزده هزار هکتار بوده است (9). گلرنگ پتانسیل عملکرد بیش از 4 تن در هکتار را دارد و عملکرد بالای 2 تن در هکتار عملکرد مطلوب به شمار می‌رود. متوسط عملکرد گلرنگ در ایران حدود 700 کیلوگرم در هکتار می‌باشد که نزدیک به متوسط جهانی است (21).

2-1-1- تاریخچه کشت و پرورش گلرنگ

گلرنگ بومی خاور میانه است و دیر زمانی است که گلرنگ از صورت وحشی خارج شده است و از 4000 سال پیش که در مصر کشت گردید کاملا شناخته شده است. این محصول احتمالا از ناحیه فرات به مصر برده شد، اما روغن‌کشی و استفاده از روغن بعدها در آن جا متداول شد. دسته ای از گلهای مجزای گلرنگ که در میان پاکتی از برگهای بید بود با جسد مومیایی آمنوفیس[8] اول از سلسله هیجدهم (1600 سال قبل از میلاد) کشف شد و چنان خوب حفظ شده بود که دقیقا تشخیص داده می‌شد. پاپیروس به‌جامانده از زمان بطلیموس دوم، 258-259 قبل از میلاد، که بطور دقیق تاریخ گذاری شده بود حاکی از آن است که پادشاه، تولید، خرید و فروش برخی روغن‌های نباتی شامل روغن گلرنگ، کرچک و تخم بذرک را انحصاری کرده بود. بنا به نوشته پلینی (قرن اول پس از میلاد) روغن حاصل از گونه ***Oleum cnicium***، در مصر به عنوان جانشینی ملایم‌تر به جای روغن کرچک استفاده می‌شد. اما مصرف خوراکی نداشت و در آن زمان برای رومی‌ها شناخته شده نبود. کاشت گلرنگ در مصر ادامه یافت ابن ماسویه (1000 میلادی) در کتاب بزرگ خود درباره طب به این گیاه اشاره کرده است. و نویسنده عرب دیگری (قرن سیزدهم) خاطر نشان می‌کند که نوع خودرو و نوع اهلی گلرنگ در آن زمان در عربستان کشت می‌شده است. گسترش عربها در قرون پنجم و ششم پس از میلاد، به کاشت گلرنگ در امتداد شمال غربی آفریقا و در اروپا کمک کرد. هاسل گیست (1762) ضمن دیداری از اسکندریه، نحوه برداشت و تهیه رنگ آن را به تفصیل شرح داد و اشاره کرد که رنگ گلرنگ به ایتالیا، فرانسه و انگلستان صادر و در آن جا به مصرف رنگرزی و تهیه پنیر رسیده است. بنا به اشاره سیاحان، مصری‌ها در قرون هیجده و نوزدهم این محصول را تولید می‌کردند (29).

---

[8] 1-Amenofice

قالیبافان منطقه ایران و افغانستان نیز از دیر باز از گلرنگ به عنوان یک منبع رنگ استفاده می‌کرده‌اند و اکنون مناطق عمده کشت آن در ایران شامل خراسان، اصفهان، کرمان و شیراز است. (29).

در اوایل قرن بیستم از اهمیت گلرنگ به عنوان یک منبع رنگ کاسته شد. اما همچنان پارچه-های گرانبهای زربافت با گلرنگ رنگ می‌شوند. گلرنگ که توسط اسپانیائی‌ها و پرتقالی‌ها یا وابستگان آنها به آمریکای مرکزی و جنوبی برده شده بود. امروزه، در این دو منطقه گیاهی عادی به شمار می‌آید. کاشت و استفاده از این گیاه به عنوان دانه روغنی در مقیاس وسیع در بیست و پنج سال اخیر صورت گرفته است. و در سطح جهانی مکزیک، آمریکا و هندوستان بیشترین سطح زیر کشت این گیاه را دارا هستند (29).

2-1-2- گیاهشناسی:

گلرنگ (2n=2x=12) یک گیاه علفی یکساله و بوته‌ای خاردار است (2). ارتفاع آن از **50-200** سانتی‌متر تغییر می‌کند. گلهای آن معمولا زردرنگ، و دگرگرده‌افشان است.

میزان روغن دانه‌های آن 45-35 درصد و بذرهای آن شبیه تخمهای کوچک آفتابگردان است. گلرنگ یک ریشه عمودی کاملا مشخص و غالبا گوشتی دارد و معمولا تاعمق 3-2 متر در خاک نفوذ می‌کند که این ویژگی نفوذ عمیق ریشه آن به درون خاک به گیاه امکان می‌دهد رطوبت و مواد غذایی مورد نیاز خود را از زیر توده قابل توجهی خاک جذب کند (29).

ساقه گلرنگ سخت، استوانه‌ای و در قسمت پایه نسبتا ضخیم است که با افزایش تعداد شاخه-ها از قطر آن کاسته می‌شود. ساقه این گیاه کاملا نرم، صاف و به رنگ خاکستری روشن یا سبز مایل به سفید و دارای شیارهای طولی است و هنگامی که رشد آن کامل می‌شود شکننده می‌گردد. شکنندگی ساقه ممکن است یک ویژگی ژنتیکی باشد. این ویژگی به نحوی قابل توجه با باردهی در ارتباط است (29).

گلرنگ پس از خروج گیاهچه، در نوک ساقه تجمعی از برگها را روی سطح زمین تولید می کند که بسرعت به ساقه اصلی تبدیل می‌شود. گلرنگ بر خلاف آن که در ابتدا رشد نسبتا کندی دارد، پس از آنکه ساقه شروع به بلند شدن کرد، بسرعت رشد می‌کند. رشد گیاهچه را با استفاده از هورمون-

های رشد نیز می‌توان تسریع کرد ارتفاع گیاه که یک ویژگی مربوط به واریته است، وابسته به شرایط آب و هوائی و تکنیک‌های زراعی است و می‌تواند بین 200-50 سانتی‌متر تغییر کند. ساقه مرکزی از 15 الی 20 سانتی‌متری سطح خاک شاخه می‌دهند و هر شاخه به یک گل انتهایی ختم می‌شود.

زاویه بین شاخه‌ها و ساقه اصلی یک ویژگی مربوط به واریته است، اما تا حد قابل توجهی می‌تواند تحت تاثیر محیط قرار گیرد. زاویه بین شاخه و ساقه در بیشتر واریته‌های تجارتی 70-30 درجه است. اندازه و شکل برگ در واریته‌ها و روی بوته‌های جداگانه، تفاوت قابل توجهی دارد و عرض آن از 2/5 الی 5 سانتی متر و طول آن از 10 الی 15 سانتی متر متغیر است. برگها معمولا در قسمت پایینتر ساقه بزرگ و دارای کنگره‌های عمیق هستند و در قسمت میانی ساقه تا سطح زیر گل‌آذین، کوچک، سفت، تخم مرغی و وارونه هستند و در گل‌آذین‌مانند براکته‌های گریبانی روی هم قرار می‌گیرند. برگهای پایینتر معمولا بدون خارند، اما تعداد خارهای روی برگ‌های بالایی یک ویژگی مربوط به واریته است و می‌تواند از بدون خار تا نسبتا خاردار متغیر باشد (29).

گل آدین گلرنگ، مانند گل آفتابگردا است و از گلچه‌های متعددی تشکیل شده‌است که روی یک نهنج نسبتا هموار مدور نزدیک به هم مجتمع شده‌اند. تعداد گلچه‌ها در واریته‌ها احتمالا

تحت تاثیر محیط بین 20 تا 180 متغیر است. دور نهنج چند لایه براکته گریبانی قـرار دارد. حلقـه بیرونی بسیار خاردار است و بنابراین از گل‌آذین در حال رشد محافظت می‌کند. خود گلهـا نیـز بـه طور جداگانه از براکته‌هایی به شکل کرک‌های کوچک تشگیل شده‌اند. رنگ گل نیز از زرد مایل بـه سفید تا قرمز پرتقالی متغیر می‌باشد که معمولترین رنگ آن زرد تیره اسـت. از گلهـا دو مـاده رنـگ دهنده کارتامیدین و کارتامین بدست می‌آید. سلول‌های راسی در انتهای ساقه‌ها و شاخه‌ها به وجود می‌آیند. سلول‌های واقع در انتهای شاخه اصلی قبل از سلول‌های انتهایی شاخه‌های فرعـی شـکوفه می‌دهد. از این رو گلدهی در گل‌آذینی که در انتهای محور اصلی گیاه قرار دارد آغـاز و پـس از آن شاخه‌های اصلی است که کاملا رشد کرده‌اند شروع به گل دادن می‌کنند (29).

2-1-3- موارد استفاده گلرنگ:

دانه گلرنگ دارای 25 الی 46 درصد روغن، 12 تا 24 درصد پروتئین و 35 تا 60 درصد پوسته می‌باشد. روغن گلرنگ در آشپزی، تهیه صابون، رنگ و مواد پوشاننده مشابه رنگ مصرف می‌شود. روغن گلرنگ از نوع خشک‌شونده، دارای مقدار زیادی اسیدهای چرب اشباع‌نشده و ضریب یدی (140 تا 150) است که قسمت اعظم آن‌را (حدود 77 درصد) اسید لینولئیک تشکیل داده است و اسید لینولنیک کمی دارد. به همین جهت روغن گلرنگ برای تهیه رنگ‌های سفید داخل ساختمان استفاده می‌شود. از گلبرگ گلرنگ ماده قرمز کارتامین و ماده زرد رنگ کارتامیدین را استخراج می‌کنند که به صورت رنگ غذایی و جهت رنگ‌آمیزی پارچه استفاده می‌شود. کنجاله گلرنگ حدود 23 درصد پروتئین و 35 درصد فیبر دارد و به عنوان مکمل پروتئین در تغذیه دام و طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد (13).

2-2- اهمیت ارزیابی مولکولی تنوع ژنتیکی

تنوع ژنتیکی در گیاهان و جمعیت‌های گیاهی از نظر کاربردی مورد توجه است. کشاورزی و تولید غذا بستگی به استفاده از ژنوتیپ‌های پرمحصول دارد. روش‌های متداول اصلاح گیاهان زراعی براساس گزینش ژنوتیپ‌های مورد علاقه از بین تنوع ژنتیکی موجود و انتخاب همه و یا تعدادی از صفات ممکن و مورد علاقه در یک ژنوتیپ به منظور تولید یک واریته تجاری می‌باشد. تنوع گونه‌ها در یک محیط به توانایی تولید و پایداری اکوسیستم وابسته است (28). با استفاده از فنوتیپ گیاهان می‌توان پی به تنوع ژنتیکی برد. اما فنوتیپ تحت تاثیر محیطی است که گیاه در آن رشد می‌کند و ممکن است این تنوع در اثر تغییرات محیطی و نه تغییرات ژنتیکی ایجاد شود. بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از فنوتیپ مستلزم هزینه و وقت زیادی می‌باشد وممکن است گاهی مواد کافی برای ارزیابی نمونه‌ها در دسترس نباشد. بنابراین امروزه روش‌های مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (24).

روش‌های مولکولی ابزار مناسبی برای مطالعه تنوع ژنتیکی گیاهی است (32). تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های گیاهی ممکن است ازطریق ساز و کارهای متفاوتی نظیر جهش، نوترکیبی جنسی، مهاجرت وجریان ژنی، رانده شدن ژنتیکی، گزینش، هیبریداسیون بین گونه‌ای، تغییر در تعداد کرومزوم‌ها و انتقال ژن ایجاد شود. جهش های نقطه‌ای می‌تواند از طریق جایگزینی یک باز یا در اثر اضافه یا حذف شدن یک نوکلئوتید به وجود آیند. جایگزینی یک باز بسته به وضعیت آن در هر ژنوتیپی ممکن است منجر به تغییر یک اسیدامینه در درون پروتئین گردد و یا این که به صورت خاموش باقی بماند. اضافه شدن یا حذف تک باز می‌تواند باعث تغییر درقالب قرائت شده و در نتیجه تغییر عمده‌ای در پروتئین حاصل و نهایتا در فتوتیپ ایجاد کند. تغییرات در تعداد زیادتری از نوکلئوتیدها با مضاعف شدن، معکوس شدن یا حذف قطعات انجام می‌شود. بسته به اهمیت ژن‌ها،