بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا با استفاده از نشانگرهای ISSR

Evaluation of Genetic Diversity in Rapeseed Genotypes Using ISSR Markers

سارا صفری[1*] و علی‌اشرف مهرابی[2]

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۳/۲۰

چکیده

کلزا (*Brassica napus*) با بیش از ۴۰ درصد روغن و بیش از ۴۰ درصد پروتئین کنجاله و تنها با ۵ درصد اسیدهای چرب اشباع در روغن، از دانه‌های روغنی عمده‌ی جهان محسوب می‌شود. ارزیابی تنوع ژنتیکی از اصول مهم و اساسی در هر برنامه اصلاحی است. در این تحقیق تنوع ژنتیکی بین ۴۵ ژنوتیپ مختلف کلزا با استفاده از ۱۵ نشانگر ISSR بررسی شد. برای تجزیه اطلاعات به‌دست آمده، باندهای تکثیر شده به‌صورت داده‌های صفر (عدم‌حضور باند) و یک (وجود باند) امتیازدهی و با استفاده از نرم‌افزارهای Darwin 5.0، MEGA 3.1 و Xlstat تجزیه داده‌ها انجام گرفت. تجزیه کلاستر داده‌ها با استفاده از ضریب عدم‌تشابه دایس و روش نزدیک‌ترین همسایه (NJ) به‌دست آمد. براساس این نتایج، دندروگرام به‌دست آمده ژنوتیپ‌ها را به پنج دسته تقسیم نمود. تعداد کل آلل‌های تکثیر شده ۱۱۰و با میانگین ۷/۳۳ آلل برای هر نشانگر بود. درصد کل تنوع بین ژنوتیپ‌ها و میانگین شاخص چندشکلی اطلاعات (PIC) به‌ترتیب برابر با ۰/۵۷۰ و ۰/۳۵۰ بود. این نشانگرها توانستند ۳ باند منحصربه‌فرد در نشانگرهای UBC 125، 134 و 165 به‌ترتیب برای ژنوتیپ‌های Savannah، Olpro و Zarfam نشان دهند. براساس نتایج به‌دست آمده از این پژوهش به‌نظر می‌رسد که استفاده از ژنوتیپ‌های متنوع‌تر جهت اجرای برنامه‌های اصلاحی، به‌منظور بهره‌برداری از هتروزیس و تولید هیبرید می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، کلزا، ISSR

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ایلام

۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ایلام، ایلام

*: نویسنده مسوول Email: safari_6564@ yahoo.com

مقدمه

طبق گزارش‌های موجود مصرف سرانه روغن خوراکی در کشور برای هر نفر حدود ۱۶ کیلوگرم و کل نیاز داخلی حدود یک میلیون تن می‌باشد که سالیانه بیش از ۹۰ درصد آن از خارج وارد می‌شود. گیاه کلزا (*Brassica napus*) از دانه‌های روغنی عمده‌ی جهان محسوب می‌شود. به همین دلیل توسعه کشت این گیاه به‌عنوان نقطه امیدی جهت رهایی از وابستگی به واردات روغن کشور به‌شمار می‌آید (خواجه‌پور، ۱۳۸۳). از دلایل دیگر افزایش تقاضا برای کلزا، ارزش تغذیه‌ای بالای روغن آن و هزینه پایین تولید در مقایسه با سایر روغن‌های گیاهی است (قدمی، ۱۳۸۹). با توجه به گسترش سطح زیر کشت کلزا در کشور و وارداتی بودن این گیاه، بررسی کامل ژرم‌پلاسم آن جهت تحقیقات گسترده‌تر ضروری می‌باشد.

لازمه استفاده و به‌کارگیری بهینه منابع ژنتیکی در برنامه های اصلاحی، در گام اول تعیین تنوع ژنتیکی است. تنوع ژنتیکی معمولاً با محاسبه فاصله ژنتیکی یا شباهت ژنتیکی که دلالت بر تفاوت‌ها یا شباهت‌هایی در سطح ژنتیکی دارد، براساس داده‌های حاصل از ارزیابی صفات مختلف یا بررسی مولکول‌های زیستی سنجیده می‌شود (قره‌یاضی، ۱۳۷۴). روش های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی وجود دارد که از آن جمله می‌توان استفاده از صفات ظاهری، آیزوزایم‌ها، پروتئین‌های ذخیره‌ای و نشانگرهای DNA را نام برد؛ اما دو روش عمده عبارت از تجزیه‌وتحلیل اطلاعات شجره-نامه و انگشت‌نگاری DNA می‌باشد که هر دو به‌طور گسترده‌ای در برنامه‌های اصلاح گیاهان زراعی، طبقه‌بندی ژرم‌پلاسم و تشخیص گروه‌های هیبرید مورد استفاده قرار گرفته‌اند *کائتانو-آنولز و گریس هوف* (Caetano-Anolles and Gresshofe, 1998).

پیشرفت در زمینه تکنولوژی نشانگرهای DNA، امکانات جدیدی برای تجزیه ژنتیکی و اصلاح گیاهان فراهم نموده است (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). داده‌های حاصل از نشانگرهای مولکولی که به‌صورت وجود یا عدم‌وجود الگوهای نواربندی DNA (به‌صورت یک و صفر) امتیازدهی می‌شوند و یا در صورت مشخص بودن رابطه آللی بین الگوهای نواربندی، به‌صورت فراوانی‌های آللی بیان می‌شوند، به‌عنوان داده‌های اولیه برای تعیین فاصله یا شباهت افراد، تعیین تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به‌کار می‌روند. از ۱۹۹۴، تکنیک مولکولی جدیدی با نام توالی ساده بین ریزماهواره تکراری (ISSR) قابل دسترس شد. ISSR ها، نشانگرهای نیمه‌تصادفی تکثیر شده توسط PCR در حضور یک آغازگر تکمیلی برای یک ریزماهواره هدف هستند. چنین تکثیری نیازمند اطلاعات توالی نیست و منجر به الگوهای با چند شکلی بالا و چندمکانی می‌شود. هر باند برابر با یک توالی DNA احاطه شده توسط دو ریزماهواره با توالی معکوس با هم می‌باشد *بومت و بارنچارد* (Bornet and Branchard, 2001). مطابق یافته‌های مکور-*ام رابت* و همکاران (Machkour-M´Rabet *et al.*, 2009) نشانگرهای ISSR توالی های DNA احاطه شده توسط دو توالی SSR معکوس شده و مرکب از واحدهای مشابه هستند.

براساس تحقیقات صورت گرفته، نشانگرهای مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی در انواع مختلفی از ژرم‌پلاسم *B. napus* مفید شناخته شده است. *فاضلی* و همکاران (Fazeli *et al.*, 2008)، با بررسی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف *B. napus* با استفاده از نشانگرهای چند شکل تکثیر شده تصادفی DNA گزارش دادند که نشانگرهای RAPD دارای پتانسیل نسبتاً بالایی بوده و ژنوتیپ‌های بررسی شده براساس تجزیه کلاستر به پنج گروه تقسیم شدند، همچنین مشخص شد که ژنوتیپ‌های با منشاء جغرافیایی مشابه، از نظر ژنتیکی متفاوت بودند. حسن و همکاران (Hassan *et al.*, 2006) در بررسی تنوع ژنتیکی در خزانه ژنتیکی *B. napus* با استفاده از نشانگرهای SSR روی ژنوتیپ‌های مختلف روغنی، علوفه‌ای و رستنی، نتیجه گرفتند که استفاده از اطلاعات ژنتیک مولکولی، شناسایی تنوع ژنتیکی را برای اصلاح کلزا فراهم می‌کند و به طور بالقوه با افزایش هتروزیس مورد انتظار در هیبریدهای کلزای روغنی مورد توجه می‌باشد. محمود و همکاران (Mahmud *et al.*, 2008)، در آنالیز تنوع ژنتیکی در بعضی لاین‌های پیشرفته *B. napus*، این ژنوتیپ‌ها را براساس خوشه بندی غیررتبه‌ای و تجزیه بردار استاندارد به چهار گروه تقسیم نمودند. *ملا* و همکاران (Molla *et al.*, 2011)، با انگشت‌نگاری DNAی واریته‌های کلزا (*Brassica rapa*) از بنگلادش با استفاده از نشانگرهای SSR، نتیجه گرفتند که استفاده از نشانگرهای SSR مخصوص گونه، بخصوص هنگامی که تشخیص یک واریته از بقیه با استفاده از صفات مورفولوژیکی مشکل است، برای استفاده از واریته‌های برگزیده و ایجاده واریته‌های جدید، اهمیت دارد. در تحقیق دیگری *اصغری* و همکاران (Asghari *et al.*, 2011)، در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام کلزا با استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی، تفاوت‌های معنی‌داری بین ارقام مورد نظر در همه صفات مورد مطالعه مشاهده و نشان دادند که تنوع بالایی درون و بین ارقام وجود دارد. در تحقیق حاضر نیز از نشانگرهای ISSR جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۴۵ ژنوتیپ مختلف کلزا استفاده شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق ۴۵ ژنوتیپ و رقم مختلف کلزا (جدول ۱)، از مرکز تحقیقات و اصلاح بذر کرج تهیه و به میزان ۲۰ تا ۳۰ بذر از هر ژنوتیپ در گلدان‌های کوچک در گلخانه کشت و مورد بررسی قرار گرفت.

استخراج DNA

پس از کشت بذور ژنوتیپ‌های مختلف، بعد از ۱۰ تا ۱۴ روز در مرحله ۲ تا سه برگی DNAی نمونه برگی به روش CTAB تغییر یافته *دویل* (Doyle, 1990) استخراج شد. کیفیت نمـــونه‌های DNA نیز از طریق الکتروفورز بر روی ژل آگارز با غلظت ۰/۸ درصد تعیین شد.

واکنش PCR

بعد از تعیین کیفیت DNAهای استخراج شده، تنها نمونه‌های با کیفیت خوب انتخاب و برای تکثیر PCR با ۱۵ نشانگر ISSR که تعداد باندهای بیشتر و با کیفیت بهتری را (در بین ۲۰ نشانگر بررسی شده) به‌دست داده بودند (جدول ۲)، استفاده شد. حجم نهایی واکنش۲۰L µ و مخلوط واکنش برای هر نمونه شامل،µ ۲L بافر PCR (۱X)، ۱µL آغازگر(CinaGene)، L ۰/۵۳µ مخلوط dNTP (۱mM)، ۱/۸µL $MgCl_2$ (۲۰mM)، ۲U آنزیم Taq پلیمراز (Armin Shegarph) و ۲µL DNA ژنومی بود. واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Biorad C1000^{TM}) انجام شد که مراحل آن شامل، ۴ دقیقه دمای ۹۴°C، ۵ چرخه شامل (۳۰ ثانیه دمای ۹۲°C، ۴ دقیقه دمای ۵ -Tm و ۵ دقیقه دمای ۷۲°C)، ۳۳ چرخه شامل (۴۰ ثانیه دمای ۹۲°C، ۱ دقیقه دمای Tm و ۲ دقیقه دمای ۷۲°C) و در نهایت ۵ دقیقه دمای ۷۲ °C به‌منظور گسترش نهایی و ۱۰ دقیقه دمای ۴°C به‌منظور نگهداری بود.

محصولات PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵درصد، تحت ولتاژ ۹۰، بمدت ۳ ساعت جداسازی شده و باندهای تکثیر شده با محلول اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و توسط دستگاه مستندسازی ژل تصویربرداری شد. در نهایت براساس باندهای به‌دست آمده، داده‌های صفر و یک (برای عدم‌حضور و حضور باند) محاسبه و به‌عنوان داده‌های اولیه برای برآورد ماتریس فاصله‌ی بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از ضریب عدم تشابه دایس و روش نزدیک‌ترین همسایه (NJ)، استفاده شد. شاخص‌های مختلف چندشکلی بین نشانگرها ازجمله PIC، PPB و تعداد آلل‌های تکثیر شده به‌دست آمد (جدول ۲).

Pij : فراوانی آلل iام در نشانگر jام

$$PIC\ Value = 1 - \sum Pij^2$$

نتایج و بحث

در مجموع ۱۱۰ آلل برای ۱۵ آغازگر ISSR تکثیر شد. در بین آنها، آغازگر UBC 887 با ۱۲ آلل و سپس آغازگرهای UBC 834 و UBC 836 با ۱۱ آلل، بیشترین آلل تولید شده را داشتند. تعداد آلل‌ها برای هر نشانگر از ۳ تا ۱۲ و با میانگین آلل‌های تولید شده ۷/۳۳ به‌دست آمد. محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) نیز از ۰/۱۸۹ (آغازگر ISSR 16) تا ۰/۴۶۹ (آغازگر UBC 888) با میانگین ۰/۳۵۰ بود (جدول ۲). میانگین تنوع بین کل ژنوتیپ‌ها نیز برابر با ۰/۵۷۰ بود. نشانگرهای UBC 125، 134 و 165 توانستند ۳ باند منحصربه‌فرد را به ترتیب برای ژنوتیپ‌های Savannah، Olpro و Zarfam نشان دهند. برای مطالعه تنوع و روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف با استفاده از توابع محاسبه ضرایب عدم‌تشابه، ماتریس فاصله بین همه‌ی ژنوتیپ‌ها به‌صورت دو به دو تشکیل شد. بر اساس ضرایب عدم‌تشابه دایس، کمترین فاصله بین ژنوتیپ‌های Elvis و Olpro که هر دو از نوع پاییزه و با منشاء فرانسه هستند، برابر با ۰/۲۶۴ و بیشترین فاصله بین ژنوتیپ‌های Elvis و Dankeld (پاییزه و با منشأ استرالیا) و برابر با ۰/۹۳۱ به‌دست آمد. لذا به‌نظر می‌رسد با توجه به نتایج به‌دست آمده، دو ژنوتیپ Elvis و Dankeld از پتانسیل بهتری برای بهره برداری از هتروزیس در برنامه‌های اصلاحی و تولید هیبرید برخوردار می‌باشند. میانگین فاصله و در واقع تنوع کل به‌دست آمده برابر با ۰/۵۷۰ بود.

جدول ۱: مشخصات ژنوتیپ‌های مورد استفاده در تحقیق

Table 1: Information of genotypes used in the experiment

ردیف Row	نام ژنوتیپ Genotype name	تیپ رشدی Growing type	منشأ ژنوتیپ Genotype origin
1	Kristiana	بهاره Spring	کانادا Canada
2	Dankeld	پاییزه Winter	استرالیا Australia
3	Shiralee	بهاره Spring	استرالیا Australia
4	Kimberly	بهاره Spring	استرالیا Australia
5	Hyola308	پاییزه Winter	استرالیا Australia
6	Hyola401	پاییزه Winter	استرالیا Australia
7	Hyola420	پاییزه Winter	استرالیا Australia
8	Licord	پاییزه Winter	آلمان Germany
9	Sarigol	بهاره Spring	آلمان Germany
10	RGS	بهاره Spring	آلمان Germany
11	SLM046	پاییزهWinter	آلمان Germany
12	Ebonite	پاییزه Winter	آلمان Germany
13	RGS003	بهاره Spring	آلمان Germany
14	Talaye	پاییزه Winter	آلمان Germany
15	PF	بهاره Spring	آلمان Germany
16	Dexter	پاییزه Winter	آلمان Germany
17	Vectra	پاییزه Winter	آلمان Germany
18	Iris	بهاره Spring	آلمان Germany
19	Nkbilbao	پاییزه Winter	فرانسه France
20	Nkoctans	پاییزه Winter	فرانسه France
21	Okapi	پاییزه Winter	فرانسهFrance
22	Nkkarabia	پاییزه Winter	فرانسهFrance
23	NKAVIator	پاییزه Winter	فرانسه France
24	Chmplain	پاییزه Winter	فرانسه France
25	Savannah	پاییزه Winter	فرانسه France
26	Adriana	پاییزه Winter	فرانسه France
27	RNX3621	پاییزه Winter	فرانسه France
28	Bilbao	پاییزه Winter	فرانسه France
29	Karun	پاییزه Winter	فرانسه France
30	Cooper	پاییزه Winter	فرانسه France
31	Olpro	پاییزه Winter	فرانسه France
32	Elvis	پاییزه Winter	فرانسه France
33	Goliath	بهاره Spring	دانمارک Denmark
34	Modena	پاییزه Winter	دانمارک Denmark
35	VDH8003	پاییزه Winter	هلند Netherlands
36	Parad	پاییزه Winter	هلند Netherlands
37	Opera	پاییزه Winter	سوئد Sweden
38	Zarfam	پاییزه Winter	ایران Iran
39	Karaj1	پاییزه Winter	ایران Iran
40	Elect	ناشناخته Unknown	ناشناخته Unknown
41	Magnet	ناشناخته Unknown	ناشناخته Unknown
42	Heros	ناشناخته Unknown	ناشناخته Unknown
43	Madrigal	ناشناخته Unknown	ناشناخته Unknown
44	Elite	ناشناخته Unknown	ناشناخته Unknown
45	Karola	ناشناخته Unknown	ناشناخته Unknown

جدول۲: مشخصات آغازگرهای ISSR و متغیرهای محاسبه شده

Table 2: ISSR primers information and calculated variables

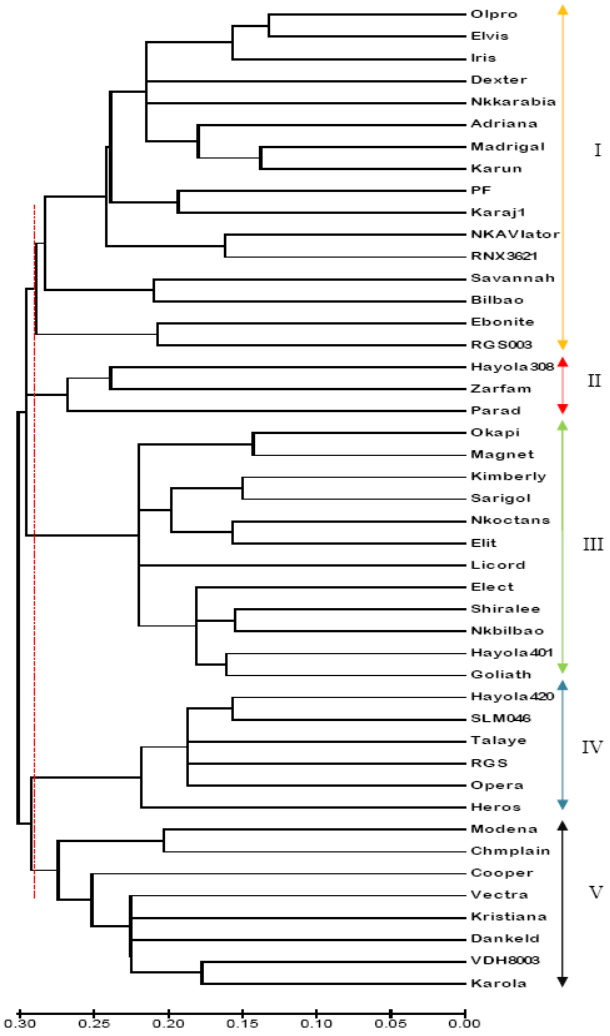
ردیف Row	نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر Primer Sequence	دمای ذوب Tm (℃)	تعداد آلل Allele number	اندازه قطعات تکثیری Band Range size(bp)	محتوای چندشکلی اطلاعات PIC	درصد چندشکلی باندها PPB%
1	ISSR	(GAGA)3 GAG	50	5	200-590	0.189	100
2	125	(ACAC)4 CA	54	8	250-1000	0.322	100
3	134	(AGAG)4 AA	52	10	200-1100	0.356	100
4	165	(AGAG)4 CC	56	9	200-800	0.406	100
5	UBC 808	(AGAGA)4 C	52.9	4	250-1200	0.276	100
6	UBC 809	(AGAG)4 G	52	5	300-750	0.367	100
7	UBC 812	(GAGA)4 A	50	9	200-1100	0.329	100
8	UBC 834	(AG)7 ACYT	53	11	200-1100	0.369	100
9	UBC 836	(AG)7 ACYA	53	11	250-1100	0.330	100
10	UBC 840	(GAGA)4 YT	53	8	150-600	0.346	100
11	155	(TGTG)4 GG	56	4	250-1100	0.218	100
12	UBC 886	VDV(CT)7	52	4	200-500	0.468	100
13	UBC 887	DVD(TC)7	51	12	180-1100	0.382	100
14	UBC 888	BDB(CA)7	52	7	250-900	0.469	100
15	ISSR 15	(TCC)5	52	3	500-900	0.427	100

Y=(C,T), V=(A,C,G), D=(A,G,T), B=(C,G,T)

برای بررسی میزان شباهت بین ژنوتیپ‌های مختلف و گروه بندی آن‌ها، با استفاده از داده‌های حاصل از ماتریس فاصله و با استفاده از روش نزدیک‌ترین همسایه (NJ) و ضریب عدم‌تشابه دایس، دندروگرام ژنوتیپ‌های مختلف در برنامه MEGA ترسیم شد (شکل ۲).

طبق این نتایج، دندروگرام حاصل، ژنوتیپ‌ها را دقیقاً مطابق با منشأ آن‌ها گروه‌بندی نکرد. این مطابق با نتایج *فاضلی* و همکاران (2008) است که مشخص کردند ژنوتیپ‌های کلزا با منشأ جغرافیایی مشابه، از نظر ژنتیکی متفاوت هستند. اما برخلاف نتایج *مرجانویک جرومِلا* و همکاران (Marjanovic-Jeromela *et al.*, 2009) بود که در بررسی‌های خود روی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا براساس صفات مورفولوژیک و نشانگر RAPD، نتیجه گرفتند که گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با منشأ آن‌ها هم‌خوانی جزئی دارد. براساس عدم‌توافق تنوع ژنتیکی به‌دست آمده در این تحقیق با منشاء جغرافیایی ژنوتیپ‌ها، به‌نظر می‌رسد که انتخاب ژنوتیپ‌های کلزای مورد مطالعه برای برنامه-های اصلاحی، بهتر است براساس تنوع ژنتیکی صورت بگیرد نه منشأ جغرافیایی آنها. البته تعدادی از این ژنوتیپ‌ها ارقام اصلاح شده هستند و ممکن است منشأ آن‌ها دقیقاً کشور تولیدکننده نباشد.

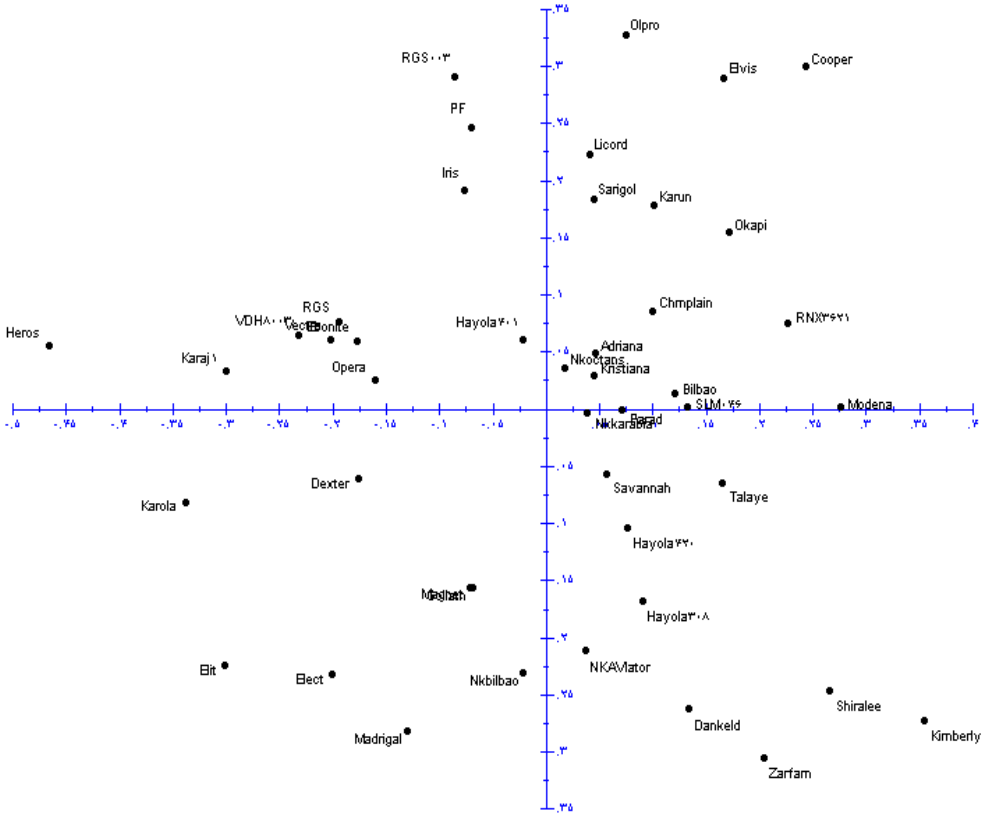
دندروگرام به‌دست آمده از ۱۱۰ آلل تکثیر شده با ۱۵ نشانگر ISSR، با استفاده از ماتریس فاصله دایس و روش NJ، این ژنوتیپ‌ها را به پنج گروه اصلی تقسیم نمود. بیشترین تعداد ژنوتیپ‌ها مربوط به گروه I (16 ژنوتیپ) و کمترین تعداد مربوط به گروه II (3 ژنوتیپ) بود. در گروه‌های III، VI و V نیز به ترتیب ۱۲، ۶ و ۸ ژنوتیپ قرار گرفت (شکل ۱). دو ژنوتیپ ایرانی (Karaj 1 و Zarfam) نیز با فاصله از هم و در دو گروه جدا قرار گرفتند. این می‌تواند نشان‌دهنده تنوع بین این ارقام باشد.



شکل۱: دندروگرام حاصل از ۱۱۰ آلل ISSR تکثیر شده در ۴۵ ژنوتیپ مختلف کلزا با استفاده از روش NJ و ماتریس عدم‌تشابه دایس
Fig. 1: Dendrogram obtained by Neighbor Joining algorithm based on Dice dissimilarity coefficients in 45 various genotypes using 110 ISSR alleles

تجزیه مؤلفه‌های اصلی و رسم نمودار بای‌پلات ژنوتیپ‌ها

به‌منظور بررسی پراکندگی ژنوتیپ‌ها و همچنین فاصله و تنوع ژنتیکی بین آن‌ها، نمودار بای‌پلات بین ۴۵ ژنوتیپ مختلف با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی براساس دو مؤلفه اصلی اول و دوم برای ماتریس عدم‌تشابه، با استفاده از برنامه DARwin 5.0 ترسیم شد. براساس این اطلاعات میزان پراکنش نشانگرهای مختلف بر روی ژنوم ژنوتیپ‌های مختلف کلزا نیز بررسی شد (شکل ۲).



شکل ۲: بای‌پلات حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۴۵ ژنوتیپ کلزا با استفاده از داده‌های حاصل از آغازگر ISSR

Fig. 2: Bioplot obtained from principal component analysis in 45 genotypes Rapeseeds based on ISSR primers

بر این اساس، سهم دو مؤلفه اصلی اول به‌ترتیب برابر با ۱۳/۵۹ و ۱۲/۵۸ و مجموعاً ۲۶/۱۷ درصد از کل اطلاعات شد. این مقدار نشان می‌دهد که دو مؤلفه اول نتوانسته‌اند همه اطلاعات به‌دست آمده را در برگیرند و این به نوبه خود می‌تواند نشان دهنده پراکنش گسترده این نشانگرها بر روی ژنوم کلزا و همه کروموزوم‌های آن باشد. مجموعه این اطلاعات ارزش بالای ۱۵ نشانگر ISSR بکار گرفته شده را نشان می‌دهد. چرا که احتمالاً هر کدام بخش خاصی از ژنوم کلزا را پوشش می‌دهند و همگی بر روی نواحی محدودی از گیاه کلزا قرار ندارند.

نتایج تحقیق نشان داد که تنوع قابل قبولی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه وجود دارد (۰/۵۷۰) و نشانگرهای به‌کار گرفته شده دارای کارآیی زیادی در شناسایی این تنوع هستند. این تنوع می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود کمی و کیفی کلزا در آینده استفاده شود. ژنوتیپ‌های Elvis و Dankeld که بیشترین ضرایب عدم‌تشابه را در تجزیه خوشه‌ای نشان دادند (۰/۹۳۱)، می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی آینده به‌عنوان والدین مورد تلاقی برای ایجاد هتروزیس بالاتر و سریع‌تر در جمعیت‌های مورد تفرق و ایجاد ارقام هیبرید و همچنین برای توسعه بهتر و بیشتر کیفیت کلزا استفاده شوند. با در نظر گرفتن متغیرهای مختلف محاسبه شده در تحقیق حاضر، ازجمله شاخص محتوای چندشکلی (PIC Value) با میانگین ۰/۳۵۰ و همچنین وجود پلی‌مورفیسم ۱۰۰ درصد در تمام نشانگرهای به‌کار گرفته شده و پراکنش آن‌ها در سطح ژنوم کلزا می‌توان نتیجه گرفت که نشانگرهای ISSR ابزار مناسبی برای تعیین تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های مختلف کلزا هستند. ظهور سه باند منحصر به فرد در نشانگرهای UBC 125، 134 و 165 برای سه ژنوتیپ مختلف Savannah، Olpro و Zarfam نیز مؤید همین مطلب می‌باشد. بنابراین نشانگرهای حاضر می‌توانند به‌عنوان ابزاری برای بررسی مجدد ژنوتیپ‌های مربوطه، در تحقیقی بر پایه تنوع ژنتیکی و فنوتیپی، برای تشخیص و شناسایی هرچه بهتر ژنوتیپ‌ها و ارقام با بیشترین اختلاف، برای تولید واریته‌های با هتروزیس بالا مورد استفاده قرار گیرند. نشانگرهای با پلی‌مورفیسم بالا و همچنین نشانگرها و ژنوتیپ‌های دارای باندهای منحصر به فرد در الگوی باندی نیز از ارزش بالایی جهت برنامه‌های اصلاحی برای مثال، شناسایی ژن‌های مفید برای مقاومت به انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی در کلزا و ارتقاء ارقام مختلف آن برخوردار می‌باشند.

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه ۱۰متن انگلیسی مراجعه شود.