مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۶، شماره ۴، سال ۱۳۸۹

روابط ژنتیکی و حالت‌های همنامی و دگرنامی بین ارقام انگور استان آذربایجان غربی

Genetic Relationship, Synonyms and Homonyms Within Grapevine Cultivars of West Azarbaijan Province

حامد دولتی بانه[۱]، سیدابوالقاسم محمدی[۲] و ماسیمو لابرا[۳]

۱- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، ارومیه
۲- استاد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۳- استاد، دپارتمان بیوتکنولوژی و بیوساینس، دانشگاه میلان، ایتالیا

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۸ **تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۴/۱۷**

چکیده

دولتی‌بانه، ح.، محمدی، س. ا.، و لابرا، م. ۱۳۸۹ روابط ژنتیکی و حالت‌های همنامی و دگرنامی بین ارقام انگور استان آذربایجان غربی. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۶:** ۵۲۹ - ۵۱۷.

به منظور بررسی تنوع و روابط ژنتیکی بین ۷۲ رقم انگور موجود در باغ کلکسیون استان آذربایجان غربی از آنالیز ۲۳ مکان ریزماهواره هسته‌ای استفاده شد. بیست و سه آغازگر ریزماهواره مجموعاً ۱۹۹ آلل چند شکل را در ارقام انگور مورد مطالعه تکثیر کردند. تعداد آلل در هر جایگاه، از دو آلل در نشانگر VVS3 تا پانزده آلل در نشانگر VMC6G7 با میانگین ۸/۶۵ متغیر بود. میزان اطلاعات چند شکل از ۰/۸۸ در نشانگر VMC6G7 تا ۰/۳۷ در نشانگرهای VVS3 و ZAG83 با میانگین ۰/۶۷ متغیر بود. مقدار هتروزیگوتی مورد انتظار (He) در محدوده بین ۰/۸۹ برای جایگاه VMC6G7 تا ۰/۴۹ در جایگاه ZAG83 با میانگین ۰/۷ بر آورد شد. تجزیه کلاستر داده‌های مولکولی، انگورها را در شش گروه قرار داد. تجزیه ریزماهواره همچنین حالت‌های دگرنامی بین ارقام موسلی و سقل سولیان، رشه و خوشناو، سیاه معمولی و کلکه ریوی، تبرزه سفید و قرمز، دیزماری و فخری و نیز سه رقم کشمشی سفید، بیدانه قرمز و رجین و همچنین اشتباه در نامگذاری ارقام الحقی و شاهرودی، خلیلی سفید و خلیلی قرمز را مشخص کرد.

واژه‌های کلیدی: انگور، ارقام، تنوع ژنتیکی، ریزماهواره.

نویسنده مسئول: ah_dolati@yahoo.com تلفن: ۶-۲۶۲۲۲۲-۰۴۴

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

از ۶۰۰۰ رقم انگور ثبت شده در دنیا فقط ۴۰۰ رقم از ارزش اقتصادی برخوردار هستند و بقیه در باغ‌های کلکسیون نگهداری می‌شوند. شناخت دقیق و قابل اطمینان ارقام در مدیریت صحیح ژرم‌پلاسم، گواهی نهال توسط خزانه‌داران، ایجاد باغ‌های یک‌دست و انتخاب والدین برای تلاقی‌های کنترل شده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Dettweiler and Eibach, 2003). مطالعه روابط بین انگورها از نظر اهلی شدن، تکامل و فیلوژنتیک در چند دهه گذشته بیشتر از طریق آمپلوگرافی (Ampelography) و نشانگرهای بیوشیمیایی (چند شکلی پروتئین، آنتوسیانین) انجام شده است. ولی به واسطه تاثیر عوامل طبیعی، مکان، نوع فعالیت داشت و مراحل نموی گیاه روی این صفات، شناسایی‌های انجام شده زیاد دقیق و قابل اعتماد نیستند (Crespan *et al*., 1999). از طرف دیگر ارقام زیادی به علل متعدد مانند مهاجرت، از منشاء اصلی خود جدا شده و در جاهای دیگر با اسامی متفاوت کاشته شده‌اند که مشکل ارقام هم نام با ساختار ژنتیکی متفاوت (Homonym) و یا ارقام دگر نام با ژنتیک مشابه (Synonym) را به وجود آورده است. در حال حاضر تعدادی از ارقام وجود دارند که بیش از صد اسم دارند و یا یک اسم به چندین رقم تعلق گرفته است. در ارقام ایتالیایی دگرنامی بین ارقام Refosco di faedis و Refoscone و همچنین Favorita و Vermetino (Vantini *et al*., 2003)، و یا بین کشمشی و تامپسون سیدلس (Bowers, and Meredith, 1996) ثابت شده است. در استرالیا هم دگرنامی بین ارقام Morillon و Chardonnay گزارش شده است (Sefc *et al*., 1998). این حالت در عمل، کارهای تحقیقاتی و گواهی نهال را دچار مشکل می‌کند. شناسایی و متمایز کردن ارقام بسیار نزدیک به هم و یا کلون از همدیگر عملاً از طریق صفات گیاه‌شناسی امکان‌پذیر نیست. امروزه به کارگیری نشانگرهای DNA (که تفاوت افراد را در سطح ماده ژنتیکی نشان داده و تحت تاثیر عوامل محیطی قرار نمی‌گیرد) به همراه داده‌های مورفولوژیک، امکان شناسایی دقیق ارقام و متمایز کردن ارقام بسیار نزدیک به هم را میسر کرده است. اساس اطلاعات به دست آمده از روش‌های مولکولی امروزه تعیین روابط ژنتیکی بین ارقام، شناسایی والدین برای تلاقی، تهیه نقشه‌های ژنتیکی و تعیین ارتباط ژنتیکی بین انگورهای وحشی و زراعی امکان‌پذیر شده است (Dettweiler and Eibach, 2003).

تعیین سطح تنوع ژنتیکی و حفظ آن در یک گونه گیاهی علاوه بر حفاظت گیاهی، در برنامه‌های به‌نژادی نیز حائز اهمیت است.کلید موفقیت هر برنامه به‌نژادی بر وجود تنوع ژنتیکی استوار است. ریزماهواره‌ها، که با عنوان‌های قطعات کوتاه تکراری (STR_s)، موتیف‌های با

Archive of SID

www.SID.ir

توالی ساده (SSM_s)، توالی ریز ماهواره نشانمند (STM_s) و توالی تکراری ساده (SSR_s) نیز خوانده می‌شوند، واحدهای تکراری یک تا شش نوکلئوتیدی هستند. این نشانگرها اختصاصی با جایگاه ژنومی مشخص، چند آللی و هم بارز هستند و در مقایسه با سایر نشانگرها، سطح بالایی از چند شکلی را نشان می‌دهند (Martinez *et al*., 2006).

نجفی و همکاران (Najafi *et al*., 2006) با به کارگیری دوازده نشانگر ریز ماهواره‌ای تنوع ژنتیکی ۱۳۶ رقم انگور ایران را همراه با ۳۶ رقم انگور اروپایی مورد بررسی قرار دادند. تجزیه واریانس مولکولی اختلاف معنی‌داری را از نظر میزان تنوع ژنتیکی بین انگورهای نواحی ایران نشان داد.

فتاحی و همکاران (Fatahi *et al*., 2003) با استفاده از نه جایگاه ریزماهواره، ۶۲ ژنوتیپ انگور ایرانی و آمریکایی را از همدیگر تشخیص دادند. دندروگرام حاصله از داده‌های مولکولی، انگورهای رومیزی، شرابی، و پایه‌ها را به گروه‌های مجزا منتسب کرد و ارقام دگرنام و همنام بین ارقام ایرانی مورد مطالعه مشخص شد. انگورهای یاقوتی مرکز، یاقوتی قصر، یاقوتی قزوین و یاقوتی سفید شیراز در واقع یک رقم بودند ولی با اسامی مختلف نامگذاری شده‌اند.

وانتینی و همکاران (Vantini *et al*., 2003) روابط ژنتیکی هفت رقم انگور جدید، پنج رقم قدیمی و دو رقم از مناطق مختلف ایتالیا را همراه با سه کلون از هر رقم مورد مطالعه قرار دادند. مطالعات قبلی دو رقم انگور Corvinone و Corvina را بسیار نزدیک و شبیه به هم تشخیص داده بودند ولی بر اساس آزمایش‌های این محققین این دو رقم کاملاً متفاوت از هم شناسایی شدند. دانگل و همکاران (Dangle *et al*., 2001) برای بررسی ژنوتیپ‌های ۴۱ نوع انگور موجود در چندین کلکسیون آمریکا،که اغلب انگورهای بی‌دانه بودند، از یازده نشانگر ریزماهواره‌ای با تنوع آللی بالا استفاده کردند. نتایج داده‌های مولکولی چندین مورد دگر نامی جدید و نامگذاری اشتباه را در کلکسیون مشخص کرد.

ایران به عنوان یکی از مراکز پیدایش و پراکنش انگور در جهان از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است سابقه کشت انگور در ایران بسیار قدیمی است به طوری که در بیشتر مناطق، از شمال تا جنوب و از شرق تا غرب، ارقام مختلفی از انگور وجود دارند. (Sabeti, 1976) و استان آذربایجان غربی دارای تنوع بالایی از نظر انگورهای زراعی و وحشی است. این تحقیق برای شناسایی دقیق ارقام انگور، یافتن ارقام دگرنام و هم‌نام و ساختار و سطح تنوع ژنتیکی آن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۷۲ رقم انگور موجود در باغ کلکسیون ایستگاه تحقیقات باغبانی دکتر نخجوانی در استان آذربایجان غربی استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

برای استخراج DNA، ۱۰-۵ عدد برگ جوان (۵-۲ سانتی‌متری) از هر نمونه انگور برداشته و در نیتروژن مایع منجمد و به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. استخراج DNA با روش لودهی و همکاران (Lodhi *et al.*, 1994) انجام شد. در این بررسی ۲۸ جفت آغازگر ریزماهواره هسته‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

برای تکثیر جایگاه‌های ریزماهواره، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی به صورت زیر بود:

مرحله اول یک چرخه شامل واسرشته‌سازی اولیه به مدت چهار دقیقه و دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد. مرحله دوم ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال آغازگرها به رشته‌های الگو، بسته به نوع آغازگرها ۶۲- ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، بسط توسط DNA پلیمراز در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه و مرحله سوم، بسط نهایی شامل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت دقیقه بود. برای تفکیک محصولات PCR از ژل پلی‌اکریلامید واسرشته‌ساز ۶ درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد. برای تعیین اندازه نسبی قطعات تکثیری، از آلل‌های پنج رقم انگور مرجع شامل Cabernet sauvignon، Barbera، Cabernet franc، Chardonnay و Pinot صورت بارگذاری چند تایی محصول پی‌سی‌آر آن‌ها برای هر نشانگر در طول ژل و استفاده از نشانگر وزن مولکولی، DNA Molecular « Weight Marker VIII (0.019-1.11kbp) » از شرکت Roche در دو انتها و وسط ژل و برای الکتروفورز از دستگاه الکتروفورز عمودی شرکت Bio Rad استفاده شد.

الگوی نواری DNA به صورت وجود (۱) یا عدم وجود نوار (۰) امتیازبندی شدند. برای هر نشانگر ریزماهواره، آلل‌ها در ارقام مورد بررسی به صورت A، B و C نامگذاری و از این طریق فراوانی آللی برای هر جایگاه ریزماهواره برآورد شد. بر اساس نشانگر وزن مولکولی، اندازه طول هر کدام از نوارها محاسبه و به هر نشانگر بسط داده شد. برای گروه‌بندی ارقام انگور از تجزیه خوشه‌ای با الگوریتم‌های مختلف بر اساس ضریب فاصله مبتنی بر ماتریس فراوانی‌های آللی جایگاه‌های ریزماهواره شامل Nei 83، Nei 73و Shared alleles با استفاده از نرم‌افزار Power marker استفاده شد. دندروگرام‌ها بر اساس ضرایب مبتنی بر وجود و عدم وجود نوارها با ۱۰۰ بار نمونه‌برداری (Bootstrap samples) برای تعیین کارایی روش‌های مورد استفاده انجام شد. برای تعیین بهترین نقطه برش و تعیین تعداد مطلوب گروه‌ها در تجزیه خوشه‌ای، از تجزیه واریانس مولکولی با نرم‌افزار Power marker استفاده شد، به طوری که در هر نقطه برش دندروگرام، گروه‌ها به عنوان تیمار و ارقام هر گروه به عنوان تکرار آن در نظر گرفته شد. نقطه‌ای که واریانس بین گروهی بیش از واریانس درون گروهی بود به عنوان بهترین

Archive of SID

www.SID.ir

نقطه برش دندروگرام و گروه‌های حاصل در این نقطه نیز به عنوان تعداد مطلوب گروه‌ها تعیین شد. از برنامه Identity برای به دست آوردن پارامترهای ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره و تعیین ارقام سینونیم بر اساس اندازه آلل‌های حاصله از جایگاه‌های ریزماهواره‌ای استفاده شد (Wagnar and Sefc, 1999).

نتایج و بحث

کلیه ۲۸ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای مورد استفاده الگوهای نواری چند شکل را در ارقام انگور تکثیر کردند. از میان آن‌ها ۲۳ جفت جایگاه، الگوی نواری مناسب برای امتیازدهی دقیق داشتند. اطلاعات مربوط به نشانگرهای ریزماهواره در ارقام زراعی انگور مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. ۲۳ جفت آغازگر ریزماهواره مجموعاً ۱۹۹ آلل چند شکل در ۷۲ رقم انگور تکثیر کردند. تعداد آلل در هر جایگاه از ۲ آلل در نشانگر VVS3 تا ۱۵ آلل در نشانگر VMC6G7 با میانگین ۸/۶۵ متغیر بود. سیفک و همکاران (Sefec *et al.*, 2000) در مطالعه ارقام اروپایی ۸۸ آلل با میانگین ۹/۸ آلل در هر جایگاه گزارش کردند. توماس و اسکات (Thomas and Scott, 1993) حداقل ۴ و حداکثر ۱۳ آلل در حالی که بوورس و مردیت (Bowers and Meredith, 1996) حداقل ۶ و حداکثر ۱۱ آلل در جایگاه‌های ریزماهواره برای انگور گزارش کردند. تعداد آلل در هر جایگاه به تعداد و نوع نمونه‌ها بستگی دارد و با افزایش تعداد نمونه‌ها و گونه‌ها تعداد آلل‌ها بیشتر می‌شود (Lamboy and Alpha, 1998). بزرگترین آلل تکثیر یافته با ۳۰۹ جفت باز مربوط به نشانگر UCH29 و کوتاه‌ترین آن با طول ۹۳ جفت باز مربوط به نشانگر VMC6G7 بود. میزان اطلاعات چند شکلی (PIC) به عنوان شاخصی برای بیان قدرت تمایز نشانگرها محاسبه شد. مقدار بالای این شاخص بیانگر چند شکلی بالا و وجود آلل‌های نادر در یک جایگاه ژنی بود. میزان اطلاعات چند شکل از ۰/۸۸ در VMC6G7 تا ۰/۳۷ در مکان VVS3 و ZAG83 با میانگین ۰/۶۷ متغیر بود (جدول ۱).

مقدار هتروزیگوتی مورد انتظار (He) در محدوده بین ۰/۸۹ برای جایگاه VMC6G7 تا ۰/۴۹ در جایگاه ZAG83 با میانگین ۰/۷ بر آورد شد. هتروزیگوتی مشاهده شده (Ho) نیز از ۰/۹۷ در جایگاه‌های ZAG64 و VVS2 تا ۰/۲۶ در جایگاه ZAG83، با میانگین ۰/۷۳ متغیر بود. از میان ۲۳ نشانگر در ۱۲ جایگاه هتروزیگوتی مشاهده شده بیشتر از هتروزیگوتی مورد انتظار بود. پایین بودن هتروزیگوتی مشاهده شده از مقادیر مورد انتظار در تعدادی از جایگاه‌ها ناشی از وجود افراد هموزیگوت و یا آلل‌های خنثی در آن جایگاه‌ها بود. نبودن تلاقی بین ارقام انگور به دلیل محدودیت برنامه‌های اصلاحی یکی از عوامل افزایش جایگاه‌های هموزیگوت بود. سیفک و همکاران (Sefc *et al.*, 2000) در کلیه جایگاه‌های

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- پارامترهای ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در ارقام انگور
Table 1. Genetic parameters of microsattelite markers used in grapevine cultivars

مکان ژنی	طول آلل بر حسب جفت باز	فراوانی آلل با بیشترین فراوانی	تعداد آلل	تنوع ژنی	هتروزیگوتی مشاهده شده	
Locus	Allele lenght	Major allele frequency	Allele number	He	Ho	PIC
SsrVrZAG62	186-206	0.39	11	0.78	0.75	0.76
SsrVrZAG47	153-171	0.34	8	0.77	0.89	0.74
SsrVrZAG64	135-163	0.26	11	0.84	0.97	0.82
SsrVrZAG83	188-200	0.68	3	0.45	0.26	0.37
VVMD5	224-246	0.23	12	0.85	0.75	0.83
VVMD7	236-264	0.24	9	0.81	0.78	0.79
VVMD8	137-230	0.27	14	0.84	0.88	0.82
VVMD17	212-224	0.62	5	0.53	0.48	0.46
VVMD21	243-266	0.52	5	0.63	0.76	0.57
VVMD25	237-267	0.26	8	0.78	0.68	0.74
VVMD26	247-261	0.62	5	0.5	0.54	0.42
VVMD27	175-194	0.37	8	0.75	0.79	0.71
VVMD32	239-271	0.39	9	0.74	0.69	0.71
VVS2	123-153	0.18	14	0.87	0.97	0.86
VVS3	212-218	0.56	2	0.49	0.65	0.37
VVS4	166-180	0.64	6	0.53	0.59	0.49
ISV2	120-167	0.39	11	0.79	0.75	0.77
ISV3	133-149	0.4	5	0.65	0.83	0.59
ISV4	162-199	0.3	6	0.76	0.68	0.73
VMC6D12	132-186	0.38	12	0.76	0.89	0.73
VMC6G7	93-145	0.19	15	0.89	0.88	0.88
VMC6G10	130-198	0.46	9	0.63	0.5	0.56
Mean		0.39	8.6	0.71	0.72	0.67

ریزماهواره مورد بررسی، هتروزیگوتی مشاهده شده را بیش از هتروزیگوتی مورد انتظار گزارش کردند. اما در مطالعه انگورهای کشور کرورواسی هتروزیگوتی در جایگاه VVS2 کمتر از هتروزیگوتی مورد انتظار بود. به طور کلی میزان هتروزیگوتی بالا در انگور را می‌توان به دو پایه و دگرگرده‌افشان بودن انگور قبل از اهلی شدن نسبت داد. با توجه به این که گیاهان هتروزیگوت قدرت رشد، سازگاری و تولید بیشتر دارند، در زمان اهلی شدن انگور، این گیاهان انتخاب و به واسطه تکثیر رویشی، این تغییرات نیز در طی سالیان متمادی بدون تغییر باقی مانده است ولی خودباروری انگور باعث کاهش هتروزیگوتی در نتاج شده است. هتروزیگوتی بالای مشاهده شده در این مطالعه احتمالاً به دلیل انتخاب طبیعی و انسانی در مقابل هموزیگوتی در انگور بوده است (Aradhya *et al.*, 2003). با توجه به درصد بالای هتروزیگوتی در جایگاه‌های VVS2، VVMD5، G7 و ZAG64 و نیز PIC بالا، این

Archive of SID

www.SID.ir

نشانگرها مناسب برای بررسی تنوع ژنتیکی و جایگاه یابی ژنی هستند.

با مقایسه دندروگرام حاصل از روش‌های مختلف، حالت‌هایی ثابت از روابط میان تعدادی از ارقام انگور مشاهده شد، به طوری که در تمامی گروه‌بندی‌ها، اغلب ارقام بومی مناطق سردشت و بانه در یک گروه قرار گرفتند. همچنین ارقام با پوست سیاه شامل قره ملحی، قره شیره و قره‌شانی نیز در یک گروه قرار داشتند. ارقام انگور اروپایی شامل شاردونی، کابرنت فرانک و کابرنت ساوینون نیز در تمامی گروه‌بندی‌ها با هم گروه‌بندی شدند. از طرف دیگر در همگی موارد ارقام رجین، کشمشی سفید، بی‌دانه قرمز، تبرزه سفید، تبرزه قرمز، دسترچین، سفید شخ شخ و عسکری به یک گروه منتسب شدند.

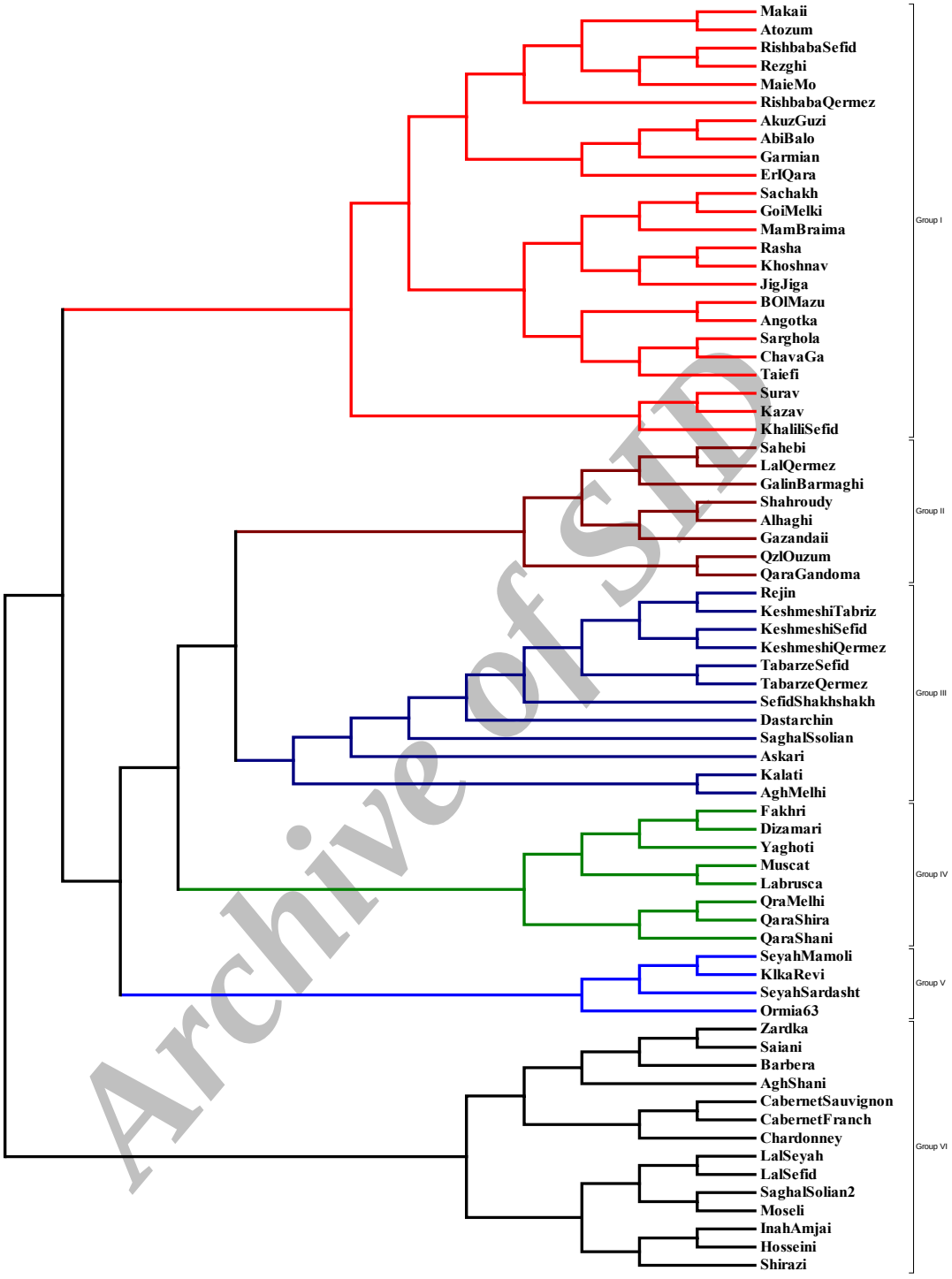
بر اساس اطلاعات موجود در مورد برخی از صفات گیاه‌شناسی، مناطق جغرافیایی، روابط شجره‌ای به ویژه در ارقام اروپایی و با در نظر گرفتن گروه‌بندی‌های انجام شده برای ارقام انگور، دندروگرام حاصل از الگوریتم Neibour-Joining بر اساس ضریب Shared allele از ضرایب مبتنی بر فراوانی آللی برای تفسیر نهایی گروه‌بندی انتخاب شد.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی در نقاط مختلف دندروگرام، بیشترین تمایز بین گروه‌ها در نقطه برش با شش گروه حاصل شد. در این گروه‌بندی (شکل ۱) گروه اول شامل ۲۴ رقم که اغلب انگورهای منطقه سردشت و بانه شامل گرمیان، مام برایمه، رشه، خوشناو، بول مازو، انگوتکه، سرقوله، چاوه گا، طایفی، سوراو و کاژاو در آن قرار گرفتند. هر چند که سه رقم دیگر این مناطق یعنی کلکه ریوی در گروه‌های پنجم و زردکه و سایانی در گروه ششم جای گرفتند. بنابراین می‌توان گفت که تجزیه ریزماهواره تا حد زیادی توانسته ارقام بومی این منطقه جغرافیایی (به غیر از زردکه، سایانی و کلکه ریوی) را از بقیه ارقام جدا کند. در مطالعه‌ای روی انگورهای کشور یونان، هشت رقم انگور از یازده انگور جزیره کرت یونان در گروه‌بندی کنار هم قرار گرفتند و در موارد دیگر ارتباطی بین مناطق کشت و ارقام دیده نشد که احتمالاً به خاطر تبادل بالای ارقام میان مناطق مختلف آن کشور بوده است (Lefort and Roubelakis, 2001).

سیفک و همکاران (Sefc *et al.*, 2000) برای مطالعه ساختار ژنتیکی خزانه ژنی ارقام انگور مناطق کشت در هشت کشور اروپایی و تفاوت بین آن‌ها از نه نشانگر ریزماهواره استفاده کردند. در این تحقیق از ارقام مشهور و قدیمی شناخته شده منتصب به هر منطقه استفاده شد. اختلاف ژنتیکی بین ارقام مناطق معنی‌دار بود و این حالت حتی در گروه‌های مجاور مانند ارقام اسپانیا و پرتغال نیز صادق بود. مشاهده تفاوت‌های ژنتیکی بین مناطق کشت انگور نشان داد که احتمالاً بتوان ارقام را بر اساس ژنوتیپ‌شان و بدون هیچ گونه اطلاعات دیگری به مناطقی که از آن‌جا منشاء گرفته‌اند، ارتباط

Archive of SID

www.SID.ir



Archive of SID

شکل ۱- گروه‌بندی ارقام انگور استان آذربایجان غربی با استفاده داده های ریزماهواره و بر اساس الگوریتم Neibour-Joining و ضریب Shared allel

Fig. 1. Dendrogram depicting genetic relations of grape cultivars of West Azarbaijan province based on shared allel distance and neighbor-joining alghorithm

www.SID.ir

داد. نتایج آن‌ها نشان داد که ارقام متعلق به مناطق جغرافیایی نزدیک‌تر تشابه ژنتیکی بیشتری دارند و علت آن‌را تثبیت آلل‌های مشابه در ارقام یک منطقه دانستند که بر اثر گزینش صفات خاص اتفاق افتاده است. در این گروه ارتباط بسیار نزدیک ژنتیکی بین ارقام رشه و خوشناو، ساچاخ و گوی ملکی (هر دو انگور ماده فیزیولوژیک) و ریش بابا سفید و رزقی، همچنین اکوز گوزی با آبی بالو مشاهده شد. گرچه ابتدا تصور می شد که دو رقم انگور ریش بابا سفید و ریش بابا قرمز کلونی از همدیگر باشند اما بر اساس نتایج حاصله این دو انگور متفاوت از همدیگر شناسایی شدند.

در گروه دوم تشابه ژنتیکی بالایی بین الحقی و شاهرودی مشاهده شد. همچنین ارتباط نزدیکی بین دو رقم انگورماده فیزیولوژیک قزل اوزوم و قره گندمه به دست آمد.

گروه سوم با ۱۲ رقم انگور که تشابه ژنتیکی بالای آن‌ها بیاینگر وجود روابط فامیلی بین آن‌ها بود. یکی از ویژگی‌های بارز این گروه وجود حالت‌هایی از نارسایی تولید بذر است. بر اساس مطالعات مورفولوژیک ارقام کشمشی سفید، بی‌دانه قرمز، رجین، سفید شخ شخ، عسکری و تا حدودی موسلی و سقل سولیان حالت استنواسپرموکارپی داشته و حاوی بقایای ناقص بذر هستند. در این گروه تشابه ژنتیکی بالایی بین کشمشی سفید و بی‌دانه قرمز، تبرزه سفید و تبرزه قرمز و انگور موسلی و سقل سولیان مشاهده شد. هیچ‌گونه اطلاعاتی در مورد زمینه ژنتیکی این ارقام وجود ندارد با این حال عدم توانایی تشکیل بذر در این ارقام احتمالاً از یک جد مشترک به آن‌ها انتقال یافته است. نتایج تجزیه نشانگر AFLP و ریزماهواره کلروپلاستی نیز پروفیل ژنتیکی و هاپلوتیپ یکسانی را برای این ارقام نشان داد (Doulati *et al.*, 2007). فتاحی و همکاران (Fatahi *et al.*, 2003) از طریق تجزیه نه جایگاه ریزماهواره نتوانستند تفاوتی بین انگور کشمشی سفید و بی‌دانه قرمز تشخیص دهند. محققان در بین کلون‌های انگور موسکات با رنگ حبه متفاوت، قادر به تشخیص تفاوت‌ها از طریق نشانگرهای ریزماهواره‌ای نشدند (Crespan and Milani, 2001).

پنج رقم موجود در گروه چهارم دارای پوست میوه سیاه رنگ هستند. تشابه ژنتیکی بسیار بالایی نیز بین دو رقم میوه سیاه رنگ قره ملحی و قره شیره مشاهده شد. انگور معطر موسکات در کنار انگور معطر گونه لابروسکا قرار گرفت. در مورد منشاء انگور موسکات توافق کاملی وجود ندارد. ایرگول و همکاران (Ergul *et al.*, 2006) تشابه بالایی را بین شش ژنوتیپ انگور ناحیه آناتولی ترکیه با نام Misket با انگور موسکات آلکساندریا و موسکات هامبورگ پیدا کردند و بیان داشتند که این ژنوتیپ‌های آناتولی احتمالا در شکل‌گیری انگور مشهور موسکات آلکساندریا نقش داشته‌اند. تشابه بالایی هم بین ارقام فخری و دیزماری در این گروه مشاهده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

در گروه پنجم به غیر از رقم کلکه ریوی بقیه دارای میوه با پوست سیاه هستند. در این گروه‌بندی انگور سیاه سردشت موجود در باغ کلکسیون استان آذربایجان غربی پروفیل ژنتیکی متفاوتی با انگور سیاه سردشت (با نام محلی رشه) و کلون آن (خوشناو) که از سردشت جمع‌آوری شده بودند (گروه ۱) داشت. ظاهراً این نمونه انگور شبیه به اصل سیاه سردشت نبوده و در نام‌گذاری آن اشتباه شده است. گروه ششم شامل چهارده رقم انگور بود که در آن کلیه انگورهای اروپایی مورد مطالعه، به غیر از رقم موسکات، قرار داشتند. در این مطالعه ارتباط ژنتیکی نزدیکی بین دو رقم انگور کابرنت ساوینون و فرانک مشاهده شد. سیفک و همکاران (Sefc *et al.*, 1997) از طریق بررسی ۵۱ رقم انگور با ۲۴ جایگاه ریزماهواره نشان دادند که انگور رقم کابرنت ساوینون از تلاقی بین انگور رقم Cabernet Franc و Blanc Sauvignon به دست آمده است. در این گروه همچنین تشابه ژنتیکی زیادی بین ارقام سقل سولیان و موسلی، حسینی و اینک امجی پیدا شد.

درکل به دلیل نبود اطلاعات شجره‌ای در مورد انگورهای ایرانی، تفسیر روابط ژنتیکی بالا در آن‌ها بسیار مشکل است. بررسی روابط بین انگورهای ایرانی و اروپایی در این مطالعه مشکل بود که این را می‌توان به کم بودن تعداد انگورهای اروپایی، وجود اجداد متفاوت برای این دو گروه و تبادل پائین بین این دو ژرم‌پلاسم نسبت داد. فتاحی و همکاران (Fatahi *et al.*, 2003) نیز تشابهی بین انگورهای شرابی خارجی و انگورهای ایرانی مشاهده نکردند و فقط تشابه کمی بین انگور فلیم سیدلس و سلطانین گزارش دادند که ظاهراً در دورگ‌گیری منتهی به ایجاد رقم فلیم سیدلس، انگور سلطانین به عنوان والد استفاده شده است.

در تحقیق حاضر چندین مورد دگر نامی در ارقام موسلی و سقل سولیان، تبرزه سفید و قرمز، فخری و دیزماری، رشه و خوشناو و ارقام کشمشی سفید، بیدانه قرمز، رجین و سفید شخ شخ مشخص شد. همچنین مواردی از اشتباه در نام‌گذاری و کشت تکراری ارقام یاقوتی، الحقی، سقل سولیان، سیاه سردشت و خلیلی قرمز در باغ کلکسیون انگور استان آذربایجان غربی مشخص شد.

حالت‌هایی نیز از هم نامی در بین انگورهای مورد بررسی مشاهده شد. ارقام سقل سولیان شماره ۱ و سقل سولیان شماره ۲ نیز پروفیل ژنتیکی متفاوتی داشتند. انگور سقل سولیان ۲ و موسلی دارای تشابه ژنتیکی کامل ودگر نام بوده که در منطقه نیز این دو اسم برای این رقم رایج است. هر چند که دو نمونه انگور با نام ریش‌بابا سفید در یک گروه قرار گرفتند ولی کاملاً شبیه هم نبودند. همچنین انگورهای ریش‌بابا سفید و ریش بابا قرمز، که احتمال کلون بودن آن‌ها فرض می‌شد، کاملاً مجزا از هم بوده و در گروه‌های متفاوت قرار گرفتند. عوامل

Archive of SID

www.SID.ir

ایجادکننده تنوع ژنتیکی بین ارقام ایرانی و وجود ارقام بسیار شبیه به هم در یک گروه احتمالاً ناشی از پلی کلونال بودن ارقام (رقم پلی‌کلونال از طریق کلون‌های متفاوت ولی مرتبط به هم ایجاد می‌شود که از تلاقی‌های یکسان یا نزدیک حاصل شده‌اند) و تجمع جهش‌های سوماتیکی است. هفتاد و دو رقم انگور مورد مطالعه در این تحقیق گرچه نماینده بخش کوچکی از انگورهای موجود در ایران هستند، ولی تنوع ژنتیکی بالا، دگرنامی، هم‌نامی و اشتباه در نام‌گذاری در این مجموعه مشاهده شد. وجود کلکسیون ارقام انگور ایران در قزوین و ارومیه فرصت مناسبی فراهم کرده است تا به منظور وجود وحدت رویه در معرفی ارقام انگور ایرانی بر اساس ساختار ژنتیکی، کلیه این ارقام بر اساس نشانگرهای ریزماهواره در چند مکان ژنی چند شکل مطالعه شده و پروفیل ژنتیکی آن‌ها در بانک اطلاعاتی ارایه و ثبت و نسبت به مشخص شدن ارقام هم نام و دگر نام اقدام شود تا ژرم‌پلاسمی قابل اعتماد در دسترس تولیدکنندگان نهال و به‌نژادگران انگور وجود داشته باشد.

References

Aradhya, M. K., Dangl, G., Prins, B. H., Boursiquot, J. M., Walker, M. A., Meredith, C. P., and Simon, C. J. 2003. Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. Genetic Research, Cambridge 81: 179-192.

Bowers, J. E., and Meredith, C. P. 1996. Genetic similarities among wine grape cultivars revealed by Restriction Fragment- length Polymorphism (RFLP) analysis. Journal of American Society for Horticultural Science 121(4): 620-624.

Crespan, M., Botta, R., and Milani, N. 1999. Molecular characterization of twenty seeded and seedless table grape cultivars (*Vitis vinifera* L.).Vitis 38(3): 87-82.

Crespan, M., and Milani, N. 2001. The Muscats: A molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationship within a large family of grapevine cultivars. Vitis 40: 23-30.

Dangle, G. S., Mendum, M. L., Prins, B. H., Walker, M. A., and Simon, C. J. 2001. Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: A tool for managing a grape germplasm collection. Genome 44: 432-438.

Dettweiler, E., and Eibach, R. 2003. The two vitis databases as tools for germplasm management of vitis international variety catalogue and European vitis database. Acta Horticulturae 603: 505-509.

Archive of SID

www.SID.ir

Doulati Baneh, H., Grassi, F., Mohammadi, S.A., Nazemieh, A., De Mattia, F., Imazio, S., and Labra, M. 2007. The use of AFLP and morphological markers to study Iranian grapevine germplasm to avoid genetic erosion. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 745-752.

Doulati Baneh, H., Mohammadi, S. A., Labra, M., Nazemieh, A., De Mattia, F., and Mardi, M. 2007. Chloroplast microsatallites markers to assess genetic diversity in wild and cultivated grapevines of Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 10 (11): 1855-1859.

Ergul, A., Kazan, K., Aras, S., Cevik, V., Celik, H., and Soylemezglu, G. 2006. AFLP analysis of genetic variation within the two economically important Anatolian grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal groups. Genome 49(5): 467-475.

Fatahi, R., Ebadi, A., Bassil, N., Mehlenbacher, S.A., and Zamani, Z. 2003. Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. Vitis 42(4): 185-192.

Lamboy, W., and Alpha, C. G. 1998. Using simple sequence repeats (SSRs) for DNA fingerprinting germplasm accessions of grape species. Journal of American Society for Horticultural Science 123(2): 182-188.

Lefort, F., and Roubelakis, K.K.A. 2001. Genetic comparison of Greek cultivars of *Vitis vinifera* L. by nuclear microsatellite profiling. American Journal of Enol. Vitic. 52(2): 101-108.

Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F., and Reisch, B. I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, vitis species and ampelopsis. Plant Molecular Biology Reperter 12(1): 6-13.

Martinez, L. E., Cavagnaro, P. F., Masuelli, R. W., and Zuniga, M. 2006. SSR-based assessment of genetic diversity in South American *Vitis vinifera* varieties, Plant Science 170: 1036-1044.

Najafi, J., Alipanah, L., Gharayazi, B., Mohammadi, S. A., Hagh Nazari, A., and This, P. 2006. Genetic diversity of Iranian and some European grapes revealed by microsatellite markers. Iranian Journal of Biotechnology 4(1): 36-44 (in Persian).

Sabeti, H. 1976. Forests, Trees and Shrubs of Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organizaion Publications, Tehran, Iran (in Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

Sefc, K. M., Lopes, M. S., Lefort, F., Botta, R., Roubelakis-Angelakis, K. A., Ibanez, J., Pejic, I., Wagner, H. W., Glossl, J., and Steinkellner, H. 2000. Microsatellite variability in grapevine cultivars from different European regions and evaluation of assignment testing to assess the geographic origin of cultivars. Theoretical and Applied Genetics 100: 498-505.

Sefc, K.M., Regner, F., Glossl, J., and Steinkellner, H. 1998. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. Vitis 37(1): 15-20.

Sefc, K.M., Steinkellner, H., Wagner, H.W., Glossl, J., and Regner, F. 1997. Application of microstellite markers to parentage studies in grapevine. Vitis 336 (11): 179-183.

Thomas, M. R., and Scott, S. 1993. Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analysed as sequence tagged sites (STSs). Theoretical and Applied Genetics 86: 985-990.

Vantini, F., Tacconi, G., Gastaldelli, M., Govoni, C., and Cattivelli, L. 2003. Biodiversity of grapevines grown in the province of Verona. Vitis 42(1): 35-38.

Wagnar, H., and Sefc, K. 1999. IDENTITY 1.0. Center for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences, Vienna. 45pp.

Archive of SID

www.SID.ir