مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۸ ، شماره ۴، سال ۱۳۹۱

مقاله کوتاه علمی

Scientific Short Article

تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های محلب (*Prunus mahaleb* L.) بر اساس صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای RAPD

Genetic Variation of Mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) Genotypes Based on Morphological Traits and RAPD Primers

ترانه قارونی[۱]، ذبیح الله زمانی [۲] و ناصر بوذری[۳]

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۳- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۹/۲ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱/۲۴**

چکیده

قارونی، ت.، زمانی، ذ. و بوذری، ن. ۱۳۹۱. تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های محلب (*Prunus mahaleb* L.) بر اساس صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای RAPD. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۸:** ۷۳۹ - ۷۱۷.

در ایران و بسیاری از کشورها از محلب (*Prunus mahaleb* L.) به عنوان پایه برای گیلاس و آلبالو استفاده می‌شود. گیاه‌شناسان آلبالوتلخه یا محلب را در جنس پرونوس Prunus از تیره رزاسه (Rosaceae) تقسیم‌بندی می‌کنند. تعداد کروموزوم‌های پایه در این جنس ۸ است (Westwood, 1987). آلبالوتلخه از جمله پایه‌های گیلاس و آلبالو رایج در بسیاری از نقاط دنیا است. انتشار جغرافیایی آلبالوتلخه در ایران بسیار وسیع و در نواحی معتدله کشور پراکنده است. در مناطق آذربایجان، کردستان، لرستان، اصفهان، چهارمحال و بختیاری، یزد و همدان وجود درختان آلبالوتلخه گزارش شده است (Khatamsaz, 1992 ؛Sabeti, 1976). در این مطالعه نشانگرهای RAPD برای تعیین سطح تنوع هشت درخت محلب که به عنوان درختان مادری برای بذرکاری استفاده می شوند به کار برده شد (جدول ۱). نمونه‌های برگی چهار درخت مادری محلب (به ترتیب ژنوتیپ‌های شماره ۱ تا ۴) از باغ تحقیقات کمال‌شهر و چهار درخت از مرکز تحقیقات گروه علوم باغبانی (ژنوتیپ‌های شماره ۵ تا ۸) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند.

پس از استخراج DNA از نمونه‌های برگی

نویسنده مسئول: taraneh_gharooni@yahoo.com تلفن: ۰۲۱۸۸۲۶۸۴۳۲

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- شماره و محل‌های ژنوتیپ‌های محلب
Table 1. Numbers and sites of mahaleb genotypes

Genotype	Site sampling	محل نمونه
Gen 1	Kamalshahr Research Garden	باغ تحقیقات کمال‌شهر
Gen 2	Kamalshahr Research Garden	باغ تحقیقات کمال‌شهر
Gen 3	Kamalshahr Research Garden	باغ تحقیقات کمال‌شهر
Gen 4	Kamalshahr Research Garden	باغ تحقیقات کمال‌شهر
Gen 5	Garden of Horticultural Science Center	باغ مرکز تحقیقات گروه علوم باغبانی
Gen 6	Garden of Horticultural Science Center	باغ مرکز تحقیقات گروه علوم باغبانی
Gen 7	Garden of Horticultural Science Center	باغ مرکز تحقیقات گروه علوم باغبانی
Gen 8	Garden of Horticultural Science Center	باغ مرکز تحقیقات گروه علوم باغبانی

واکنش PCR روی آن‌ها انجام شد. تعداد ۴۰ آغازگر ده نوکلئوتیدی مورد بررسی قرار گرفت که در نهایت ۱۲ آغازگر از سری‌های TIBM-BA و TIBM-BC (از شماره ۱ تا ۲۰ در هر سری) استفاده شد. برای استخراج DNA از روش موری و تامسون (Murry and Thompson, 1980) استفاده شد. غلظت و کیفیت نمونه‌ها با روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. با توجه به اعداد قرائت شده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۶۰ نانومتر، غلظت‌های مساوی (غلظت ۱۰ نانوگرم در مایکرولیتر) از نمونه‌های DNA استخراجی تهیه شد و به منظور تکثیر در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌های DNA تکثیر شده روی ژل آگارز ۱/۲ درصد در دستگاه الکتروفورز به مدت ۱۲۰ دقیقه با ولتاژ ۸۰ و در بافر TBE الکتروفورز شدند، سپس با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و در دستگاه ژل داک برای گرفتن تصویر قرار گرفتند. نوارهای چند شکل به صورت اعداد صفر (عدم حضور) و یک (حضور) نمره‌دهی شدند و ماتریس اعداد صفر و یک با برنامه NTsys مورد تجزیه قرار گرفت و با استفاده از روش UPGMA تجزیه کلاستر انجام شد. برای ثبت صفات مورفولوژیکی نمونه‌برداری در زمان رسیدن میوه‌ها انجام شد و بر اساس دیسکریپتور گیلاس (Kavand *et al.*, 2007) شانزده صفت از ژنوتیپ‌های موجود ثبت شد. برای تجزیه و تحلیل صفات مورفولوژیکی از نرم‌افزار SPSS 15 استفاده شد.

نتایج حاصل از ماتریس تشابه نشان داد که کمترین شباهت (۰/۲۶) بین ژنوتیپ شماره ۸ با ژنوتیپ‌های شماره ۲ و ۵ و بیشترین شباهت (۰/۸۲) بین ژنوتیپ‌های شماره ۴ و ۷ بود، ژنوتیپ‌های شماره ۳ و ۵ نیز در فاصله نزدیکی

Archive of SID

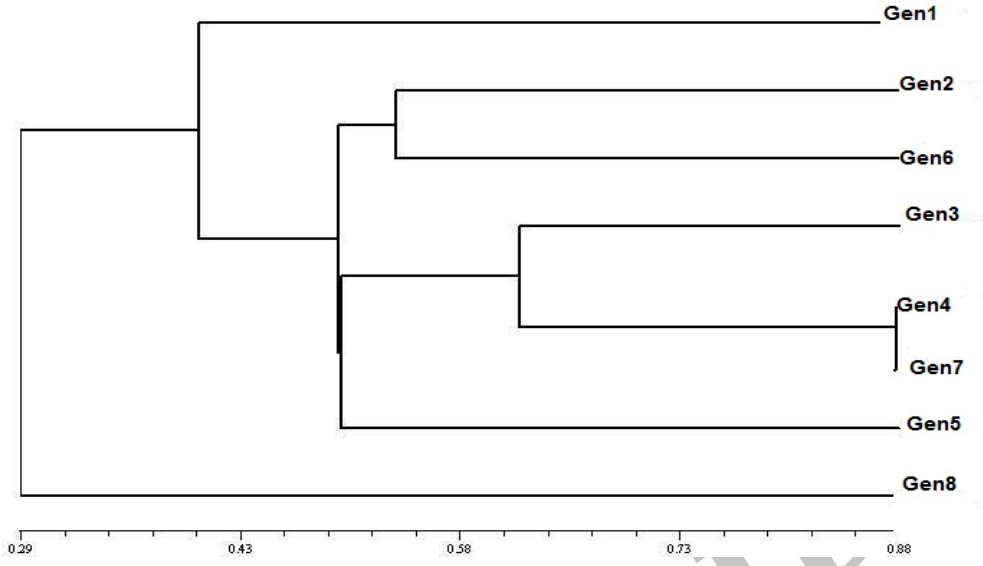
www.SID.ir

از این دو قرار داشتند. در کلاستر حاصله (شکل ۱) در فاصله ۰/۲۹ ژنوتیپ‌ها به دو گروه اصلی تقسیم شدند که در گروه اول ژنوتیپ شماره ۸ قرار گرفت و گروه دوم سایر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در خود جای داد. گروه دوم در فاصله ۰/۳۸ خود شامل دو زیر گروه شد که در زیرگروه اول ژنوتیپ‌های شماره ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ قرار گرفتند و در زیر گروه دوم ژنوتیپ شماره ۱ از باغ تحقیقات کمال‌شهر با خصوصیات منحصر به فرد به تنهایی قرار گرفت. ژنوتیپ شماره ۴ از باغ تحقیقات کمال شهر با ژنوتیپ شماره ۷ از مرکز تحقیقات علوم باغبانی شباهت‌های قابل توجهی (۰/۸۲) از نظر نشانگرهای حاصله نشان دادند. این می‌تواند به احتمال حصول آن‌ها از یک منشاء بذری بوده باشد. در کل وجود شباهت‌های ژنتیکی در میان توده‌های یک منطقه، قابل قبول به نظر می‌رسد. همچنین در این تحقیق مشخص شد که RAPD برای شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌های آلبالوتلخه دارای کارایی مطلوب و مناسب است. در کلاستر صفات مورفولوژیکی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس روش وارد (Ward's method) انجام شد (شکل ۲). ژنوتیپ‌های موجود در فاصله ۲۵ به دو گروه عمده تقسیم شدند. در گروه اول شش ژنوتیپ قرار گرفتند که بیشترین شباهت بین دو ژنوتیپ شماره ۱ و ۲ وجود داشت که این دو ژنوتیپ در کلاستر مولکولی هم در کنار یک دیگر قرار گرفتند. صفت متمایز این دو ژنوتیپ عادت رشدی افراشته و میزان قدرت بالای رشد آن‌ها بود. با کاهش فاصله از ۲۵ به ۱۸، سه گروه اصلی مشاهده شد. در گروه اول علاوه بر دو ژنوتیپ شماره ۱ و ۲، ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۴ و ۷ هم قرار گرفتند. شایان ذکر است که این سه ژنوتیپ در تجزیه و تحلیل مولکولی هم شباهت‌هایی با یک دیگر داشتند، به طوری که بالاترین شباهت در داده‌های مولکولی مربوط به دو ژنوتیپ شماره ۴ و ۷ با میزان ۸۸٪ بود. در زیر گروه دیگر ژنوتیپ شماره ۸ قرار گرفت. این ژنوتیپ در کلاستر مولکولی بیشترین تفاوت را با بقیه ژنوتیپ‌ها نشان داد و در یک گروه جدا قرار گرفت. گروه اصلی دیگر که از بقیه ژنوتیپ‌ها به طور کامل جدا قرار گرفت، شامل دو ژنوتیپ شماره ۵ و ۶ بود. علی‌رغم این که این دو ژنوتیپ در آنالیز مولکولی از یک دیگر متفاوت بودند (شباهت ۵۵٪) با کلاستر مورفولوژیکی با هم قرار گرفته و در فاصله ۱۰ از هم جدا شدند. مهم‌ترین عامل تاثیرگذار در جدا شدن این دو ژنوتیپ میزان عدسک کمتر و طول دمبرگ بزرگ‌تر از بقیه ژنوتیپ‌ها بود.

سندالی و همکاران (Sandalli *et al.*, 2005) به وسیله نشانگر RAPD و با استفاده از ۱۴ پرایمر به بررسی سه رقم و فرم وحشی *Prunus laurocerasus* پرداختند. ضریب تشابه جاکارد بین ۶۴٪ و ۸۴٪ به دست آمد که بر اساس آن دو دسته کلی حاصل شد که یکی فرم وحشی و دیگری بقیه رقم‌ها بودند. گنجی‌مقدم و خلیقی

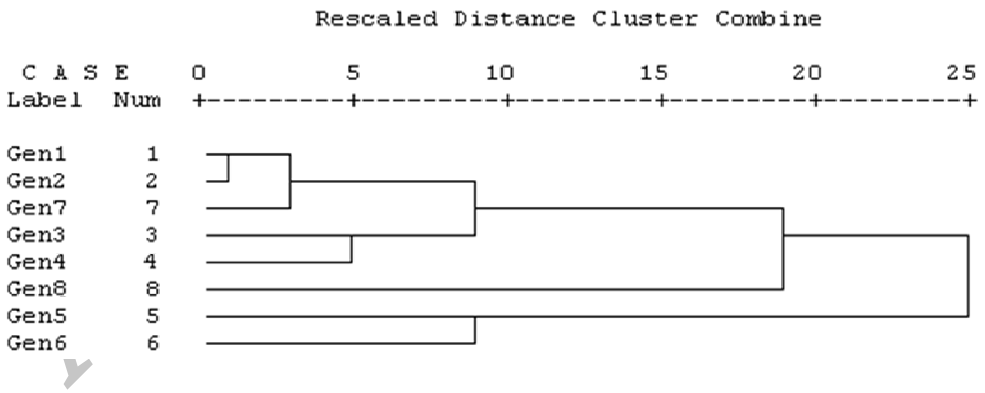
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- دندروگرام گروه‌بندی هشت ژنوتیپ محلب بر اساس داده‌های حاصل از نشانگرهای RAPD

Fig. 1. Dendrogram of eight genotypes of mahaleb based on RAPD primers data



شکل ۲- دندروگرم گروه‌بندی هشت ژنوتیپ محلب بر اساس صفات مورفولوژیکی

Fig. 2. Clustering of eight genotypes of mahaleb based on morphological traits

(Ganji Moghadam and Khalighi, 2006) اندازه‌گیری شاخص رشدی از قبیل ارتفاع تاج، خصوصیات رشدی هفده جمعیت محلب را با پهنای تاج، قطر تنه مورد بررسی قرار دادند.

www.SID.ir

نتایج آن‌ها نشان داد که نهال‌های محلب از مناطق مختلف سرعت‌های رشدی متفاوتی دارند.

در این تحقیق نتایج کسب شده از داده‌های مورفولوژیکی کاملاً منطبق با نتایج حاصل از داده‌های مولکولی نبود. به هر حال عدم وجود رابطه معنی‌داری بین داده‌های مولکولی و مورفولوژیکی در آزمایش‌های متعددی گزارش شده و علل متعددی برای آن ذکر شده است (Zamani *et al.*, 2007).

واژه‌های کلیدی: پایه محلب، تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی، RAPD، صفات مورفولوژیکی.

References

Ganji Moghadam, E., and Khalighi, A. 2006. Relationship between vigor of Iranian *Prunus mahaleb* L. selected dwarf rootstocks and some morphological characters. Scientica Horticulturae 111: 209-212.

Kavand, A., Bozari, N., and Ghanavati, F. 2007. National guide line for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability in cherry. Institute of Seed and Plant Certification and Registration Institute, Karaj, Iran (in Persian).

Khatamsaz, M. 1992. Flora of Iran. No. 6. Rosaceae. Research Institute of Forests and Rangelands Publication, Iran. 352 pp. (in Persian).

Murray, M.G., and Thompson, W.F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research 19: 4321-4326.

Sabeti, H. 1976. Forests, Trees and Shrubs of Iran. University of Yazd Publications, Yazd, Iran. 670 pp.(in Persian).

Sandalli, C., Beris, F., Canakci, S., Demirbag, Z., and Osmanbeld, A. 2005. RAPD analysis of three cultivars and a wild form in *Prunus laurocerasus* (Rosaceae). Biologia Bratislava 1: 83-87.

Westwood, M. N. 1987. Temperate Zone Pomology. Freeman, San Francisco, USA.

Zamani, Z., Sarkhosh, A., Fatahi, R., and Ebadi, A. 2007. Genetic relationships among pomegranate genotypes studied by fruit characteristics and RAPD markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 11-18.

Archive of SID

www.SID.ir