



انگشت نگاری ارقام مهم نر و ماده خرما در استان هرمزگان

حامد حسن زاده خانکهدانی^{۱*} و عبدالنبی باقری^۲

^۱ کارشناس مدیریت باغبانی سازمان جهاد کشاورزی فارس، ^۲ عضو هیات علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان

* نویسنده مسئول: Hamed51h@gmail.com

چکیده

پژوهش حاضر با هدف بررسی تنوع ژنتیکی ارقام نر و ماده خرمای استان هرمزگان به منظور شناسایی روابط خویشاوندی این ارقام با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و نشانگرهای ISSR انجام شد. نتایج نشانگرهای ISSR نشان داد که محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۳۶۹۵ تا ۰/۴۹۹۸ با میانگین ۰/۴۴۹۷ متغیر بود. بیشترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی مربوط به مکان ژنی ۱۰G (CT) معادل ۰/۴۹۹۸ بود. برای نشانگرهای ISSR در مجموع ۱۱۲ آلل شناسایی شد. بر اساس صفات ریخت‌شناسی و همچنین نشانگرهای مولکولی، ارقام خرمای مورد بررسی به هشت گروه اصلی و زیرگروه‌های مختلف تقسیم شدند اما همبستگی معنی‌داری بین گروه‌بندی ریخت‌شناسی و مولکولی مشاهده نشد. نشانگرهای ISSR تا حد بسیار زیادی ارقام نر را از ارقام ماده تفکیک نمود اما در بررسی صفات ریخت‌شناسی مرز مشخصی بین ارقام نر و ماده مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: نخل خرما، نشانگر، DNA، محتوای اطلاعات چندشکلی، ISSR

مقدمه

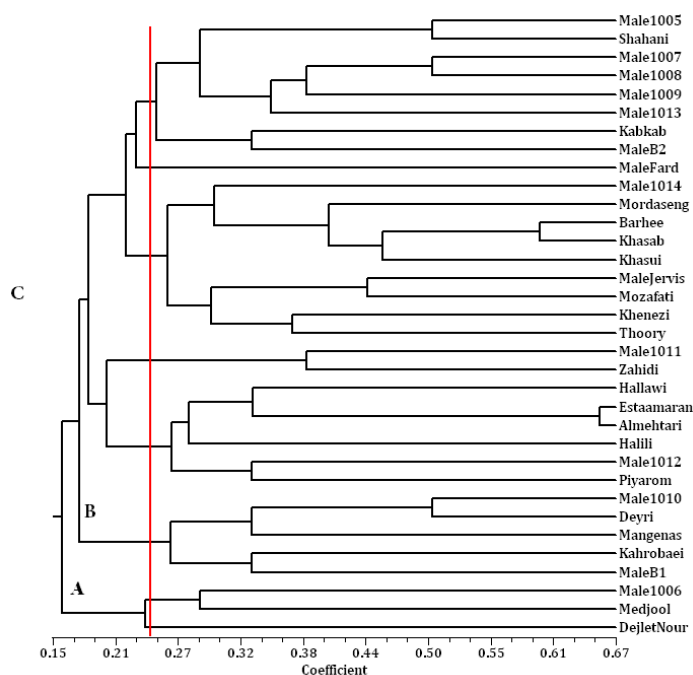
درخت خرما یا نخل یکی از مقدس‌ترین و قدیمی‌ترین درختان میوه شناخته‌شده برای انسان است (هاشم‌پور، ۱۳۷۸). درخت خرما به دلیل مقاومت به خشکی، تحمل شرایط نامساعد آب و هوایی و خاک در زمره معدود گونه‌های گیاهی است که توانسته است گسترش و استقرار انسان در سرزمین‌های گرم و لم‌یزرع را امکان‌پذیر کند. خرما یکی از محصولات عمده کشاورزی ایران و یکی از منابع مهم ارزآوری برای کشور است. تأثیر محصول خرما در وضعیت اقتصادی کشور مسئله‌ای قابل تعمق و پراهمیت است. یکی از معضلات باغداران در احداث نهالستان، نامشخص بودن اصالت ژنتیکی ارقام مورد کشت می‌باشد. تنوع ژنتیکی اساس اصلاح نباتات است که از تکامل طبیعی ناشی شده و از اجزای مهم پایداری نظام‌های زیستی است (نقوی، ۱۳۸۴). اطلاع از تنوع ژرم‌پلاسم‌ها و روابط ژنتیکی میان ارقام در اصلاح خرما امری ضروری است. با توجه به دگرگشتن بودن خرما و این که نوع گرده بر خصوصیات کمی و کیفی میوه و هسته اثر می‌گذارد، لذا انتخاب نوع گرده مناسب می‌تواند در تولید کمی و کیفی محصول خرما موثر باشد (رضازاده و همکاران، ۲۰۱۳). به نظر می‌رسد قرابت ژنتیکی بین نخل نر و ماده می‌تواند در بهبود این روند مفید باشد. به همین دلیل بررسی تنوع ژنتیکی ارقام نر و ماده خرما در یک منطقه و پی‌بردن به قرابت ژنتیکی آن‌ها می‌تواند در انتخاب نوع گرده برای هر رقم ماده، موثر باشد. در مناطق مختلف استان هرمزگان از جمله میناب، ارقام نر و ماده زیادی وجود دارد که تنوع ریخت‌شناسی زیادی نشان می‌دهند. از طرفی چندین رقم نخل نر با کیفیت، طی چند سال گذشته از خارج از کشور وارد و در ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب کشت شده است که از مرغوبیت بالایی برخوردار بوده و در صورتی که بتوان قرابت ژنتیکی هر یک از این ارقام نر را با ارقام ماده تحت کشت در منطقه مشخص نمود، می‌توان با نتایج به دست آمده از این پژوهش، نوع گرده مناسب را برای هر رقم ماده تعیین نمود. در گذشته روش‌های شناسایی ارقام مبتنی بر خصوصیات ریخت‌شناسی برگ، میوه، هسته و مغز هسته بود ولی در موارد خاصی این صفات برای شناسایی ارقام کافی نبودند. امروزه تعیین اصالت ژنتیک محصولات باغی از سطح ریخت‌شناسی فراتر رفته و به‌وسیله روش‌های نوین بیوتکنولوژی در سطح ژنوتیپ و DNA صورت می‌گیرد (Zehdi et al., 2004a). Ashraf-Mehrabi و Marsafari (۲۰۱۳) در بررسی تنوع ژنتیکی بین ۱۵ رقم خرما در جنوب و جنوب غرب ایران با استفاده از نشانگرهای ISSR و RAPD دریافتند که این دو نشانگر قادر به بررسی رابطه بین ارقام خرما می‌باشند. پژوهش حاضر، با هدف تعیین ارتباط ژنتیکی بین ارقام نر و ماده خرمای تجاری موجود در استان هرمزگان انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی از ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب و حاجی‌آباد تهیه شد. نمونه‌ها از برگ‌های ابتدایی هنوز باز نشده که تقریباً فاقد کلروفیل بودند، انتخاب شدند. یادداشت‌برداری از صفات ریخت‌شناسی بر اساس دستورالعمل ملی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری در خرما (بی‌نام، ۱۳۸۵) و از تعداد پنج اصله نخل هم سن انجام شد. استخراج DNA به روش موری و تامسون (۱۹۸۰) انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام شد. بررسی و تفکیک محصولات حاصل از تکثیر، در دستگاه الکتروفورز افقی و با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد انجام شد. برای امتیازدهی باندها، باندهای چندشکل حاصل با استفاده از روش صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) امتیازدهی شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده، از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.02 استفاده شد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری‌های ریخت‌شناسی در قالب یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳۴ تیمار (رقم) و پنج تکرار با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه واریانس و میانگین‌ها با استفاده از آزمون PLSD در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. برای استفاده از داده‌های ریخت‌شناسی برای خوشه‌بندی ارقام، این اعداد به صفر و یک تبدیل و با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc 2.02 خوشه‌بندی ارقام انجام شد.

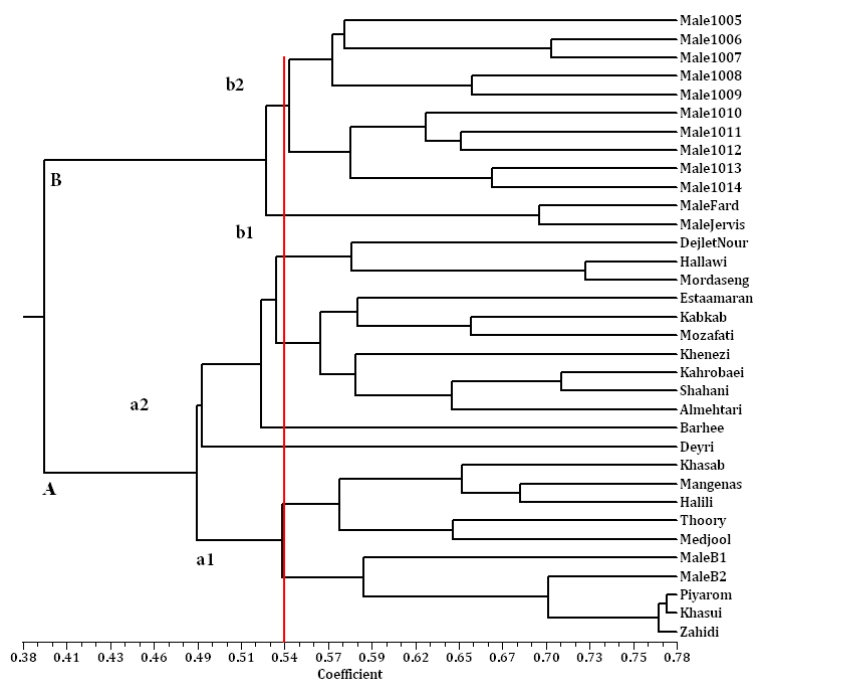
نتایج

برایند نتایج مقایسه میانگین بین صفات ریخت‌شناسی نشان داد که بیشترین تنوع مشاهده شده که منجر به افزایش تعداد گروه‌بندی بین ارقام شد، در صفات رشد طولی سالیانه، محیط تنه، طول برگ، متوسط طول خار و محیط انتهای محور برگ مشاهده شد. طول برگچه میانی و نسبت تعداد برگچه به خار کمترین تنوع را بین ارقام نشان داد. در همه شش صفت مربوط به خصوصیات میوه در ژنوتیپ‌های ماده، اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین ۲۰ رقم ماده مشاهده شد. ضریب تغییرات به دست آمده از ۵/۳ در صفت طول میوه تا ۱۱/۶ در صفت وزن هسته متغیر بود. در بین صفات مربوط به میوه در بین ارقام ماده، وزن میوه و هسته بیشترین تنوع را نشان دادند. داده‌های حاصل از ثبت صفات ریخت‌شناسی بر اساس توصیف‌نامه خرما، گروه‌بندی و به صورت صفر و یک امتیازبندی شد. بر اساس ضریب همبستگی ضرایب کوفتیک و ضرایب تشابه با سه روش دایس، جاکارد و تطابق ساده، بیشترین همبستگی در استفاده از روش جاکارد (۰/۶۴۷) مشاهده شد. بنابراین کلاستر مربوط به روابط خویشاوندی با استفاده از ضریب جاکارد ترسیم شد. در شکل ۱ گروه‌بندی ارقام نر و ماده خرما بر اساس صفات ریخت‌شناسی به صورت دندروگرام نمایش داده شده است (نتایج نمایش داده نشده است).



شکل ۱- گروه‌بندی ارقام نر و ماده خرما بر اساس صفات ریخت‌شناسی با استفاده از روش UPGMA

گروه‌بندی ارقام نر و ماده خرما بر اساس هفت آغازگر ISSR (شکل ۲) نمایش داده شده است. به طور کلی، بر اساس دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های ISSR، ارقام نر ۱۰۰۵ تا ۱۰۱۴ و فرد نر و جرویس در یک گروه (B) و همه ارقام ماده و دو رقم نر بی‌نام ۱ و ۲ در یک گروه (A) قرار گرفتند. در گروه B، دو زیرگروه b1 شامل فرد نر و نر جرویس و b2 شامل ارقام نر ۱۰۰۵ تا ۱۰۱۴ قرار گرفتند. در گروه A دو زیرگروه a1 شامل ارقام زاهدی، خاصویی، پیارم، نر بی‌نام ۲، نر بی‌نام ۱، مجول، توری، هلیلی، منگناس و خصب و a2 شامل دیری، برحی، آل‌مهتری، شاهانی، کهربایی، خنیزی، مضافتی، کبکاب، استعمران، مرداسنگ، حلاوی و دجلت‌نور قرار داشتند. بر اساس رفرنس لاین ارقام نر و ماده خرما به هشت گروه اصلی و زیرگروه‌های مختلف تقسیم‌بندی شدند (شکل ۲).



شکل ۲- گروه‌بندی ارقام نر و ماده خرما بر اساس آنالیز هفت آغازگر ISSR با استفاده از روش UPGMA

بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر همبستگی بین نتایج تجزیه ریخت‌شناسی و ISSR غیرمعنی‌دار بود ($r=0/025$). مطالعات مولکولی کارایی نشانگرهای مولکولی را در بررسی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های نخل خرما به اثبات رسانده است. با این حال، مطالعات محدودی، همبستگی بین نشانگرهای مولکولی و فنوتیپی را نشان داده‌اند (Hamza et al., 2012). Rhouma-Chatti و همکاران (۲۰۱۱) تفکیک معنی‌داری در استفاده از نشانگرهای AFLP و RAMPO در ارقام نر مشاهده نکردند. Hamza و همکاران (۲۰۱۲)، همبستگی معنی‌داری بین داده‌های ژنتیکی و استحکام بافت میوه مشاهده کردند. در مقابل، همبستگی معنی‌داری بین داده‌های مولکولی و زمان رسیدگی میوه مشاهده نشد. در پژوهش حاضر، بیشترین ضریب تشابه ریخت‌شناسی بین دو رقم آل‌مهتری و استعمران (۰/۶۶) مشاهده شد. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته، دو رقم آل‌مهتری و استعمران شباهت زیادی با هم ندارند. به نظر می‌رسد رقم منسوب به استعمران کشت‌شده در کلکسیون ارقام خرما در ایستگاه تحقیقات میناب، که در واقع از پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری به این کلکسیون منتقل شده است، در اصل استعمران نبوده و شباهت‌های زیادی به آل‌مهتری دارد. این تشابهات بیشتر از نظر قطر تنه و نیز زودرسی و اندازه میوه بوده است. بر اساس صفات ریخت‌شناسی و همچنین نشانگرهای مولکولی، ارقام خرمای مورد بررسی به هشت گروه اصلی و زیرگروه‌های مختلف تقسیم شدند اما همبستگی معنی‌داری بین گروه‌بندی ریخت‌شناسی و مولکولی مشاهده نشد. نشانگرهای ISSR توانستند تا حد بسیار زیادی ارقام نر را از ارقام ماده تفکیک نمایند اما در بررسی صفات ریخت‌شناسی تفکیک مشخصی بین ارقام نر و ماده مشاهده نشد. نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز گروه‌بندی حاصل از نشانگرهای ISSR را به خوبی تأیید نمود.



منابع

۱. بی‌نام. ۱۳۸۵. دستورالعمل ملی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری در خرما. موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال. ۴۱ صفحه.
۲. نقوی مر، قره‌یاضی ب، حسینی سالکده ب. ۱۳۸۴. اصول ژنتیک. انتشارات دانشگاه تهران.
۳. هاشم‌پور، م. ۱۳۷۸. گنجینه خرما. جلد اول. نشر آموزش کشاورزی.
4. Hamza H, Benabderrahim MA, Elbekkay M, Ferdaous G, Triki T, Ferchichi A. 2012. Investigation of genetic variation in Tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars using ISSR marker systems and their relation with fruit characteristics. Turk J Biol, 36: 449-458.
5. Marsafari M, Ashraf-Mehrabi A. 2013. Molecular identification and genetic diversity of Iranian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars using ISSR and RAPD markers. Australian Journal of crop Science. 7(8): 1160-1166.
6. Murray HG, Thompson WF. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Res 8:4321-4325.
7. Rezazadeh R., Hassanzadeh H., Hosseini Y., Karami Y., Williams RR. 2013. Influence of pollen source on fruit production of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Barhi in humid coastal regions of southern Iran. Scientia Horticulturae, 160: 182-188.
8. Rhouma-Chatti S, Baraket G, Dakhlaoui-Dkhil S. 2011. Molecular research on the genetic diversity of Tunisian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) using the random amplified microsatellite polymorphism (RAMPO) and amplified fragment length polymorphism (AFLP) methods. Afr J Biotechnol 10: 10352-10365.
9. Zehdi S, Trifi M, Billotte N. 2004a. Genetic diversity of Tunisian date palms (*Phoenix dactylifera* L.) revealed by nuclear microsatellite polymorphism. Hereditas 141: 278-287.

Fingerprinting of the important male and female cultivars of date fruit in Hormozgan province

Hamed Hassanzadeh Khankahdani^{1*} and Abdolnabi Bagheri²

¹Expert of Horticulture Management of Fars Agricultural Organization, ²Faculty member of Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center.

*Corresponding Author: Hamed51h@gmail.com

Abstract

This investigation was performed in order to recognize relationship among date palm cultivars of Hormozgan province using ISSR markers to evaluate genetic diversity of male and female cultivars of date palm. Banding pattern was scored based on presence or non-presence of band with 0 and 1 and PIC was estimated in which it varied from 0.3695 to 0.4998 with average 0.4497. The highest PIC value was relative to (CT)₁₀G primer (0.4498). Totally, 112 alleles were recognized. According to dendrogram, the 34 studied cultivars placed in two main groups and 8 sub-groups, but it was not observed any significant correlation between morphological and molecular grouping. ISSR markers separated male cultivars from female cultivars, but it was not observed any distinct border between male and female cultivars by using morphological attributes.

Keywords: Date palm, Marker, DNA, PIC, ISSR.