

انگشت نگاری ژنوتیپ های محلی انبه در استان هرمزگان

عبدالنبی باقری^{۱*}، حامد حسن زاده خانکهدانی^۲ و سید سعید مدرس نجف آبادی^۱

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

*نویسنده مسئول: Hamed51h@gmail.com

چکیده

در این پژوهش، تنوع ژنتیکی و ریخت شناسی ۳۹ ژنوتیپ انبه جمع آوری شده از شهرستان های میناب و رودان (استان هرمزگان) با استفاده از نشانگرهای ISSR و صفات ریخت شناسی مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از دندروگرام ماتریس تشابه برای داده های ریخت شناسی، ژنوتیپ ها به هشت گروه اصلی تقسیم بندی شدند. حداقل میزان تشابه مابین ژنوتیپ های آل مهوری و چارک دیده شد و حداکثر تشابه مابین مشک، آناناسی گلشوار، نغال و هلیلی گلشوار بود. نتایج تجزیه ۲۱ ویژگی ریخت شناسی در ژنوتیپ های انبه مورد مطالعه نشان داد که این ژنوتیپ ها از نظر همه صفات (به جز تراکم گل و شکل گل آذین) دارای اختلاف معنی دار بودند. حداقل میزان تشابه ملکولی مابین ژنوتیپ های مجلسی و چارک و حداکثر تشابه مابین گیلای و کلانفر بازیاری دیده شد. تنوع بالای مشاهده شده بین ژنوتیپ های مورد بررسی در این پژوهش، علاوه بر وجود تفاوت های ذاتی آن ها، می تواند ناشی از تکثیر بذری این ژنوتیپ ها باشد.

واژه های کلیدی: انبه، نشانگر، DNA، نشانگر ریخت شناسی، ISSR.

مقدمه

انبه (*Mangifera indica* L.) یک گونه مهم از خانواده Anacardiaceae و یک محصول مهم تجاری در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا است (راجوانا و همکاران، ۲۰۱۱). انبه به دو طریق جنسی و غیرجنسی قابل ازدیاد است. از آنجایی که انبه گیاهی دگرگشن است تکثیر آن از طریق بذر علاوه بر داشتن دوره نونهالی طولانی، باعث به وجود آمدن درختانی با صفات بسیار متفاوت نسبت به والد خود می شود که در اکثر موارد، میوه تولید شده از کیفیت پایینی برخوردار است. بررسی تنوع ژنتیکی انبه، موجب افزایش شناخت نسبت به این گیاه شده و امکان انتخاب ژنوتیپ های مرغوب تر را برای توسعه کشت و کار آن و فعالیت های تحقیقاتی بعدی فراهم می نماید. سطح بالای تنوع مشاهده شده در ارقام بومی می تواند در برنامه های اصلاحی برای تولید ارقام بهتر و استفاده از این ارقام به عنوان والد بخشیده برای انتقال صفات مطلوب به ارقام پرمحصول مورد استفاده قرار گیرد. تولید و توسعه کشت انبه به دلیل کمبود ارقام مرغوب (بیشتر به دلیل موانع موجود بر سر راه به نژادی معمولی)، با محدودیت هایی مواجه شده است. از جمله مشکلات موجود در به نژادی معمولی انبه می توان به چندروایی حاصل از رویان زایی بافت خورشی، درصد تشکیل بذر و میوه کم، هتروزیگوسیتی، ریزش زیاد میوه، پیچیده بودن طبیعت گل ها، نیاز به باغ با مساحت زیاد برای ارزیابی دورگه ها و دوره طولانی نونهالی اشاره کرد (ناکاسون و پائول، ۱۹۹۸). استفاده از نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای بسیار مهم و قوی در این زمینه می باشد که در ارزیابی روابط خویشاوندی و بررسی شباهت ها یا تفاوت ها بین نمونه های مختلف کاربرد دارد. هم چنین استفاده از این نشانگرها در مدیریت ژرم پلاس و گزینش براساس نشانگر، برای افزایش کارایی اصلاح و تکثیر ژرم پلاس مفید می باشد. به علاوه، یکی از پایه های اساسی اصلاح نباتات دسترسی و آگاهی از میزان تنوع در مراحل مختلف پروژه های اصلاحی است که نشانگرهای مولکولی توانایی برآورد مناسبی از فواصل ژنتیکی بین واریته های مختلف را دارا می باشند. در بین انواع نشانگرهای مولکولی موجود، نشانگرهای ISSR به طور خاصی مورد توجه قرار گرفته و کاربرد زیادی شده اند (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). در دو دهه گذشته در جنوب ایران، روند تولید درختان پیوندی انبه با کشت بذور و پیوند ارقام مناسب (چه ثبت شده نظیر سندری و لانگرا و چه ثبت نشده) روی آن ها سرعت بیشتری گرفته است. لذا بررسی تنوع ژرم پلاس های انبه موجود در این مناطق می تواند نقشه راه مناسبی در شناسایی و تفکیک این ژنوتیپ ها باشد. در پژوهش حاضر ژنوتیپ های بومی مناطق میناب و رودان (استان هرمزگان) که عمدتاً از طریق بذر به وجود آمده اند و به مرور زمان براساس کیفیت و ذائقه پسندی تکثیر رویشی یافته اند، جمع آوری و تنوع آن ها توسط صفات ریخت شناسی و نشانگرهای مولکولی بررسی

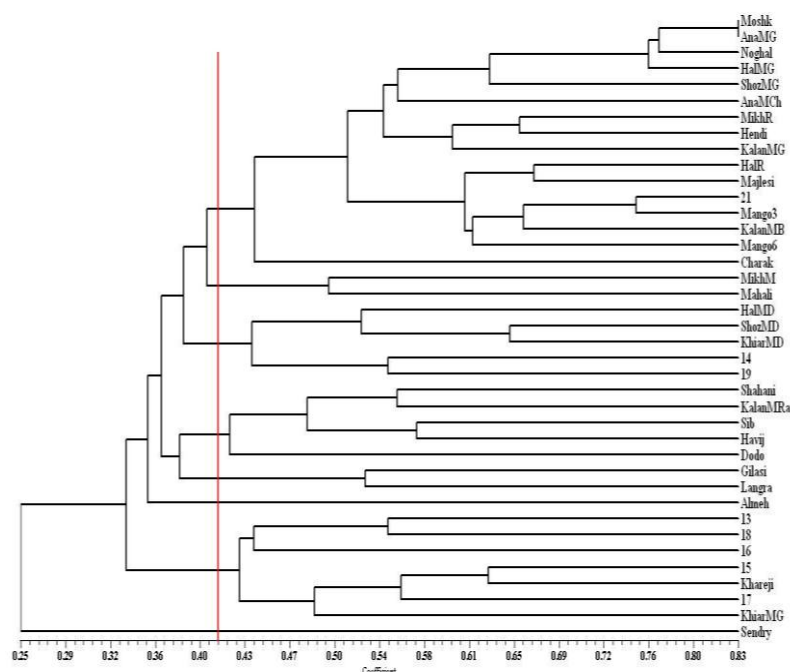
شد. این ژنوتیپ‌ها در مناطق مختلف، نام‌گذاری‌های خاصی داشته و این احتمال وجود دارد که دو نام متفاوت از نظر ژنتیکی، یک ژنوتیپ بوده و یا حتی دو نام یکسان تفاوت‌های فاحشی داشته باشند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها از سرشاخه‌های جوان ۳۹ ژنوتیپ بالغ انبه بدون علائم ظاهری ناشی از عوامل بیماری‌زا و فیزیولوژیک از مناطق مختلف استان هرمزگان شامل میناب (حکمی، راونگ و هشت‌بندی)، رودان (کمیز) و ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب جمع‌آوری شدند. نام‌گذاری ژنوتیپ‌ها در پژوهش حاضر براساس نام محلی آن‌ها می‌باشد. ارزیابی صفات و ویژگی‌های ریخت‌شناسی مورد نظر براساس توصیف‌نامه موجود برای انبه با ۲۱ صفت انجام شد. برای استخراج DNA از روش تغییر یافته CTAB (دویل و دوئل، ۱۹۹۰) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت Bio Rad آلمان انجام شد. ۱۳ نشانگر ISSR مورد استفاده قرار گرفت. امتیازدهی باندهای تفکیک‌شده براساس وجود و یا عدم وجود باندها به ترتیب با ۱ و صفر انجام شد. برای تجزیه از نرم‌افزار NTSYS 2.02 استفاده شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، پس از اندازه‌گیری کمی صفات ریخت‌شناسی، داده‌ها در نرم‌افزار SAS 9.1 تجزیه شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد. همچنین یک ماتریس صفر و یک از داده‌های ریخت‌شناسی تهیه و با استفاده از ضریب تشابه جاکارد تجزیه و همانند داده‌های مولکولی، روابط تباری بین ژنوتیپ‌های انبه با استفاده از نرم‌افزار NTSYS 2.02 در قالب دندروگرام ترسیم شد.

نتایج

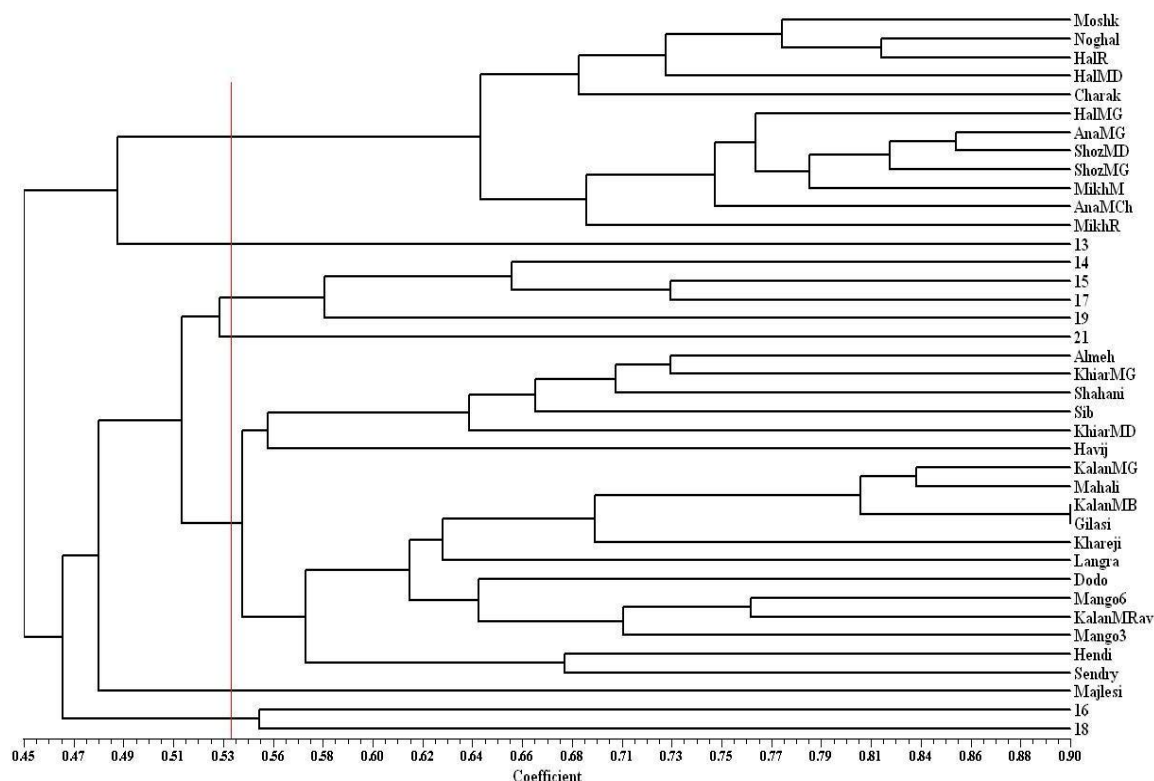
با استفاده از دندروگرام حاصل از داده‌های ریخت‌شناسی، ژنوتیپ‌ها به هشت گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند (شکل ۱).



شکل ۱- دندروگرام حاصل از داده‌های ریخت‌شناسی با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA

دامنه تشابه به‌دست آمده از تجزیه ماتریس تشابه داده‌های ریخت‌شناسی از ۰/۱۲ تا ۰/۸۳ متفاوت بود. حداقل میزان تشابه مابین ژنوتیپ‌های آلمهتری و چارک دیده شد و حداکثر تشابه مابین مشک، آناناسی گلشوار، نغال و هلیلی گلشوار بود. متوسط میزان تشابه به‌دست آمده نیز ۰/۵۴ بود. ضریب تشابه بین نغال و مشک ۰/۷۰، هلیلی گلشوار و مشک ۰/۷۶، هلیلی و نغال ۰/۷۶، آناناسی گلشوار و نغال ۰/۸۳، آناناسی گلشوار و مشک ۰/۸۳ و بین آناناسی گلشوار و هلیلی گلشوار ۰/۷۶ به‌دست آمد. نتایج تجزیه ۲۱ ویژگی ریخت‌شناسی مورد نظر در ژنوتیپ‌های انبه مورد مطالعه، نشان داد که این ژنوتیپ‌ها از نظر همه صفات (به‌جز تراکم گل، شکل گل‌آذین، سینوس میوه و نوع سینوس) دارای اختلاف معنی‌داری بودند (نتایج نمایش داده نشده است).

آغازگرهای استفاده شده در این مطالعه در مجموع ۱۴۵ نوار قابل امتیازدهی تولید کردند. براساس دندروگرام حاصله (شکل ۲)، ۳۹ ژنوتیپ انبه در هفت کلاستر دسته بندی شدند: کلاستر اول: مشک، آناناسی گلشوار، نغال، هلیلی گلشوار، شوزانبه گلشوار، آناناسی چلو گاومیشی، میخک رودان، میخک میناب، هلیلی رودان، چارک، هلیلی دهوسطی و شوزانبه دهوسطی. کلاستر دوم: کد ۱۳. کلاستر سوم: کد ۱۴، کد ۱۵، کد ۱۷ و کد ۱۹. کلاستر چهارم: کد ۲۱. کلاستر پنجم: هندی، کلانفر گلشوار، انبه ۳ رودان، کلانفر بازاری، انبه ۶ رودان، محلی، خیار دهوسطی، شاهانی، کلانفر راونگ، سیب، هویج، رقم دودو، گیلانی و رقم لانگرا، آل مهتری، خارجی، خیار گلشوار و رقم سندری. کلاستر ششم: مجلسی. کلاستر هفتم: کد ۱۶ و کد ۱۸.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از داده های ISSR با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و آنالیز خوشه ای UPGMA

بحث و نتیجه گیری

دامنه وسیع ماتریس تشابه پژوهش حاضر (هم در مورد داده های ریخت شناسی و هم در خصوص داده های مربوط به نشانگرهای ISSR) تأییدی بر تفرق صفات ناشی از کشت بذور تک جنینی انبه در جنوب کشور می باشد. چرا که روند گسترش سطح زیر کشت انبه در ایران (دو استان هرمزگان و سیستان و بلوچستان) از سال ها قبل با تکثیر بذری ژنوتیپ های انبه موجود و میوه های وارداتی انجام شده است و همان گونه که گفته شد با توجه به ماهیت تک جنینی انبه های موجود و عمده میوه های وارداتی، تنوع ناشی از تفرق صفات موجود در باغات این دو استان کاملاً طبیعی و قابل تفسیر می باشد. تقریباً همه ژنوتیپ های مورد بررسی در این پژوهش به جز رقم دودو تک جنین بودند. تاکنون تلاش ها برای پی بردن به ماهیت تک جنین یا چند جنین بودن ارقام انبه از طریق نشانگرهای مولکولی موفقیت آمیز نبوده است. در پژوهش حاضر، نتایج تجزیه ویژگی های ریخت شناسی ژنوتیپ های انبه نشان داد که این ژنوتیپ ها از نظر صفات ریخت شناسی به جز تراکم گل و شکل گل آذین، دارای اختلاف های معنی داری هستند و این روش به خوبی توانست ژنوتیپ های مورد مطالعه را از هم تفکیک و گروه بندی نماید. براساس خوشه بندی داده های ریخت شناسی، ژنوتیپ های مورد بررسی به هشت گروه تقسیم شدند که در آن ارقام شناخته شده ای نظیر لانگرا و سندری در کلاس مجزایی از هم قرار گرفتند و دارای تفاوت فاحشی با بیشتر ژنوتیپ های مورد بررسی از نظر صفات ریخت شناسی بودند. کارایی ویژگی های ریخت شناسی در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انبه توسط محققین مختلفی تأیید شده است. در میان ژنوتیپ های انبه می توان نتیجه گیری کرد که بخش قابل توجهی از تنوع ریخت شناسی مشاهده شده میان

ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش، به وجود تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها مربوط شده و ناشی از تغییرات محیطی و میکروکلیمایی نمی‌باشد. این تفاوت‌های موجود از نظر شرایط رشدی در مناطق رودان و میناب می‌تواند دلیل ایجاد تنوع ریخت‌شناسی زیادی بین ژنوتیپ‌های مشابه انبه در این دو منطقه باشد که باعث عدم همراهی صفات ریخت‌شناسی و مولکولی شده است. به همین دلیل ژنوتیپ‌هایی که از نظر ژنتیکی تشابه بالایی با هم دارند ممکن است از نظر ریخت‌شناسی تفاوت‌های زیادی با هم داشته باشند و یا دو ژنوتیپ هم‌نام در دو منطقه، تفاوت‌های ژنتیکی فاحشی با هم داشته باشند. به‌عنوان مثال ژنوتیپ کلانفر بازیاری که ضریب تشابه ژنتیکی بالایی (۰/۹۰) با ژنوتیپ گیلانی داشت، از نظر ریخت‌شناسی ضریب تشابهی برابر ۰/۳۷ با هم داشتند. این در حالی است که ژنوتیپ گیلانی که از منطقه احمدآباد میناب جمع‌آوری شده بود با منطقه بازیاری شباهت اکولوژیکی یکسانی داشت. در مثالی دیگر، ضریب تشابه ژنتیکی ژنوتیپ آناناسی گلشوار و شوزانبه دھوسطی ۰/۸۵ بود در حالی که این دو ژنوتیپ از نظر ریخت‌شناسی ۳۸ درصد با هم تشابه داشتند. ضریب همبستگی بین ماتریس تشابه ژنتیکی و مورفولوژی حدود ۰/۳۳۶ و غیرمعنی دار بود. این عدد حاکی از همبستگی ضعیف و غیرمعنی‌دار بین صفات ریخت‌شناسی و نشانگرهای ژنتیکی بود.

منابع

۱. نقوی، م.ر.، قره‌یاضی، ب. و حسینی سالکده، ق. (۱۳۸۸). نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران.
2. Doyle, J.J. and Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12: 13-15.
3. Nakasone, H.Y. and Paull, R.E. (1998). Tropical fruits. Cab International.
4. Rajwana, I.A., Khan, I.A., Malik, A.U., Saleem, B.A., Khan, A.S., Ziaf, K., Anwar, R. and Amin, M. (2011). Morphological and biochemical markers for varietal characterization and quality assessment of potential indigenous mango (*Mangifera indica*) germplasm. Int. J. Agric. Biol., 13: 151-158.

Fingerprinting of the native genotypes of Mango in Hormozgan province

Abdolnabi Bagheri¹, Hamed Hassanzadeh Khankahdani^{2*}, and Seyed Saeed Modares Najafabadi¹

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

*Corresponding Author: Hamed51h@gmail.com

Abstract

Herein, we studied genetic and morphological diversity of 39 mango genotypes collected from Minab and Rudan counties (Hormozgan province) using ISSR markers and morphological attributes. The dendrogram inferred from morphological characters grouped all genotypes in eight main clades. The least similarity was observed between Almehtari and Charak, and the most similarity was observed among Moshk, AnaMG, Noghal and HalMG. Analysis of 21 morphological parameters in the studied genotypes demonstrated being of significant differences among these genotypes in terms of morphological attributes (except flower density and inflorescence shape). The least similarity was observed between Majlesi and Charak. However, the highest similarity was observed between Gilasi and KalanMB genotypes. The high genetic diversity showed by morphological attributes was also corroborated by ISSR markers, indicating low environmentally influenceability of the attributes.

Keywords: Mango, Marker, DNA, Morphological marker, ISSR.