

گروه بندی و تعیین میزان تنوع بین جمعیت های سیب استان اصفهان بر اساس ژن های مقاوم به بیماری**سفیدک سطحی به کمک نشانگر مولکولی SCAR**مرضیه ربانی^{۱*}، محمد مجتبی کامل منش^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی شیراز، شیراز، ایران. ۲- استادیار گروه مهندسی گیاهپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز، ایران.

*نویسنده مسئول: marziehrabbani@yahoo.com

چکیده

اصلاح برای رسیدن به مقاومت پایدار از روش هایی است که امروزه مورد توجه خاصی واقع شده است. اصلاح مقاومت باعث از بین رفتن پاتوژن های گیاه توسط خود گیاه می شود. گروه بندی و بررسی آلی ۱۰ جمعیت سیب استان اصفهان با استفاده از آغازگر SCAR مربوط به بیماری سفیدک بررسی گردید. فواصل ژنتیکی با استفاده از ضرایب فاصله نی محاسبه گردیده و تجزیه خوشه ای با استفاده از الگوریتم UPGMA انجام گرفت و بدین ترتیب ۱۰ جمعیت سیب مورد بررسی در دو گروه قرار گرفتند. تجزیه به مختصات اصلی نیز سه مؤلفه را مشخص نمود که در مجموع توانستند بیش از ۹۸/۳۹٪ از کل تغییرات را توجیه کنند. بای پلات بدست آمده از تجزیه به مختصات اصلی، جمعیت ها را به ۵ گروه تقسیم کرد. به طور کلی نتایج آزمایش نشان داد که تنوع مناسبی بین جمعیت ها از لحاظ آغازگرهای مربوط به مقاومت به بیماری وجود ندارد و جهت تولید نتایج قوی تر از لحاظ مقاومت، بهتر است از تلاقی درون جمعیتی استفاده شود.

کلمات کلیدی: تجزیه به مختصات اصلی، تجزیه خوشه ای، سفیدک سیب، SCAR**مقدمه**

سیب از تیره گلسترخیان بوده و به همراه گلابی، به، به ژاپنی، زالزالک و زبان گنجشک کوهی به عنوان میوه های دانه دار در زیر تیره Pomoideae طبقه بندی شده و از جنس *Malus* می باشد (خدیدی، ۱۳۹۰). سیب از مهمترین محصولات باغی است که سهم عمده ای از تجارت محصولات کشاورزی را در کشورهای بسیاری به خود اختصاص می دهد. طبق آخرین آمارنامه وزارتخانه جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۱، کشور ایران با سطح زیر کشت ۱۹۷۵۹۲ هکتار و تولید ۲۹۰۳۵۶۸ تن، مقام سوم سطح زیر کشت و تولید سیب جهان را به خود اختصاص داده است.

درختان سیب در طولانی مدت با محرک های محیطی و موتاسیون پاتوژن ها مواجه شده اند (خواجه پور، ۱۳۸۴). بیماری های گیاهی عامل محدودکننده کاشت یک گیاه در یک منطقه و یا کشور می باشند و تمام گیاهان یک گونه که به بیماری خاصی حساس هستند را نابود می سازند. برای از بین بردن پاتوژن ها و تولید سیب با کیفیت بالا تلاش های زیادی انجام گرفته است. اکثر پاتوژن ها با عوامل حفاظتی گیاه مبارزه می کنند لذا مدیریت صحیح، مبارزه با آفات و استفاده از ارقام مناسب در پرورش درختان سیب بسیار حائز اهمیت می باشد. سفیدک سطحی یا پودری (*Podosphaera leuotricha*) سیب از نظر اقتصادی یکی از مهم ترین بیماری های کشت سیب در سراسر دنیا به شمار می آید که با توجه به اقلیم مناطق کشت سیب، این آسیب می تواند همانند حمله لکه سیاه سیب به چشم آید (جعفرپور و همکاران، ۱۳۸۹).

مواد و روش ها

آزمایش پیش رو، طی سال ۹۳-۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد شیراز اجرا گردید. در این تحقیق برگ های جوان و تازه درختان سیب موجود در مناطق مختلف استان اصفهان شامل سمیرم (بخش های مرکزی سمیرم، حاجی آباد، حنا، پادانا، مهرگرد، بیده)، خمینی شهر، شهرضا، اصفهان و دهقان جمع آوری گردید. برای جلوگیری از تخریب DNA، به فریزری با دمای

حدود ۸۰- درجه سانتی گراد انتقال داده شد. استخراج DNA از نمونه‌های برگی به روش CTAB (موری و تامپسون^۱، ۱۹۸۰) انجام شد. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA از روش اسپکتروفتومتر و ژل آگارز ۲٪ استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر اساس روش ویلیامز^۲ و همکاران و با اندکی تغییر بر روی ۴ نشانگر SCAR مربوط به بیماری سفیدک انجام شد.

نتایج

تعیین فاصله ژنتیکی بین افراد

فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس ضریب فاصله نی اندازه‌گیری شد. بر اساس ماتریس فاصله به دست آمده، این فاصله بین ۰/۰۰ و ۰/۲۴ متفاوت بود. بیشترین فاصله ژنتیکی برای جمعیت‌های دهاقان و سمیرم و برابر با ۰/۲۴ و کمترین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های سمیرم-مهرگرد و سمیرم-حاجی آباد با مقدار ۰/۰۰ وجود داشت (جدول ۱).

جدول ۱. ماتریس فاصله ژنتیکی نی جمعیت‌های سیب مورد مطالعه

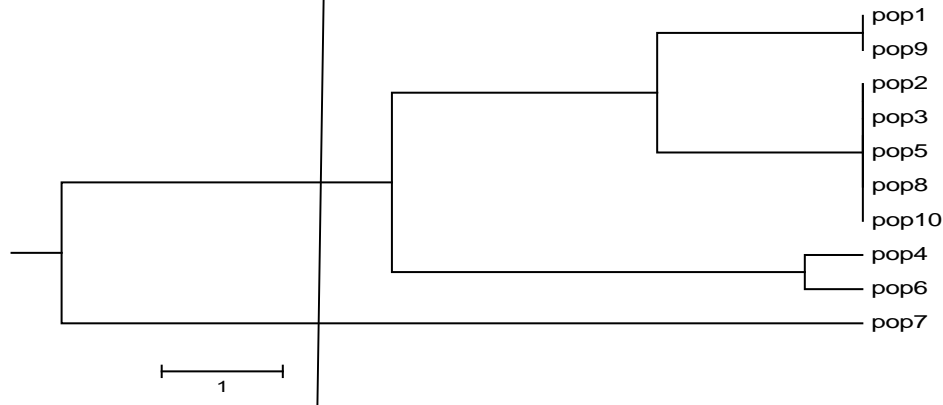
جمعیت	سمیرم بیده	سمیرم پادانا	سمیرم مهرگرد	دهاقان	خمینی شهر	اصفهان	سمیرم	سمیرم حاجی آباد	شهرضا	سمیرم حنا
سمیرم-حنا										۰/۰۰
شهرضا									۰/۰۰	۰/۰۲
سمیرم-حاجی آباد								۰/۰۰	۰/۰۱	۰/۰۶
سمیرم							۰/۰۰	۰/۰۷	۰/۱۲	۰/۲۲
اصفهان				۰/۰۰			۰/۱۲	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۴
خمینی شهر				۰/۰۰	۰/۰۰		۰/۰۵	۰/۰۸	۰/۰۹	۰/۱۴
دهاقان				۰/۰۰	۰/۱۰	۰/۱۵	۰/۲۴	۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۰۸
سمیرم-مهرگرد			۰/۰۰		۰/۰۸	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۰۰	۰/۰۱	۰/۰۶
سمیرم-پادانا		۰/۰۰	۰/۰۷	۰/۱۴	۰/۲۰	۰/۰۵	۰/۲۲	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۰۲
سمیرم-بیده	۰/۰۰	۰/۱۲	۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۰۷	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۱۰

تجزیه کلاستر جمعیت‌های سیب مورد بررسی در بیماری سفیدک بر اساس آغازگرهای متصل به بیماری

نتایج تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب فاصله نی و روش خوشه‌بندی UPGMA با استفاده از نرم‌افزار Mega4 به دست آمد. نتایج خط برش، جمعیت‌ها را به دو گروه تقسیم‌بندی کرد (شکل ۱).

1. Murray and Thompson

2. Williams et al.



شکل ۱. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد بررسی سبب در بیماری سفیدک بر اساس آغازگرهای تکثیری

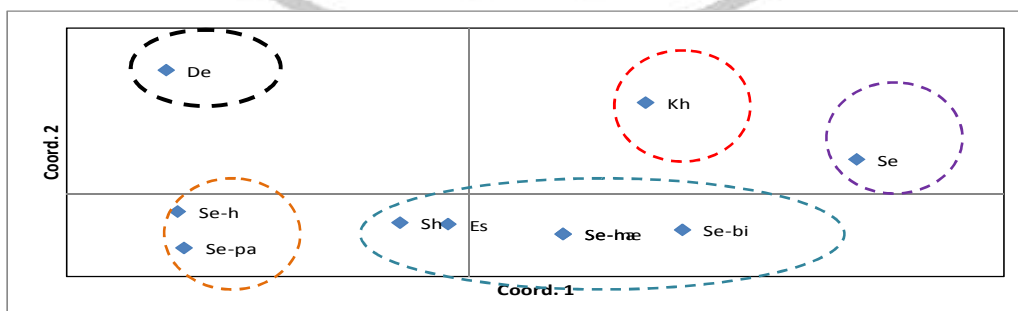
(pop1) Se-h = (سمیرم حنا)، (pop2) Sh = (شهرضا)، (pop3) Se-ha = (سمیرم حاجی آباد)، (pop4) Se = (سمیرم)، (pop5) Es = (اصفهان)، (pop6) = Kh (خمینی شهر)، (pop7) De = (دهقان)، (pop8) Se-me = (سمیرم مهرگرد)، (pop9) Se-pa = (سمیرم پادنا)، (pop10) Se-bi = (سمیرم بیده)

تجزیه به محوره‌های اصلی جمعیت‌های سبب مورد مطالعه در بیماری سفیدک

نتایج تجزیه به محوره‌های اصلی با هدف کاهش حجم داده‌ها و تفسیر آسان‌تر اطلاعات، شامل واریانس توجیه شده به وسیله هر مولفه و واریانس تجمعی سه مولفه اول حاصل از آغازگرهای استفاده شده، نشان داد سه محور اول در مجموع ۹۸/۳۹ درصد تغییرات را توجیه می‌کند (جدول ۲). همچنین نمودار بای پلات تجزیه به مختصات اصلی، جمعیت‌ها را به ۵ گروه تقسیم کرد (شکل ۲).

جدول ۲. واریانس نسبی، تجمعی سه محور اول تجزیه به مختصات اصلی جمعیت‌های سبب مورد بررسی

محور	۱	۲	۳
واریانس نسبی	۵۳/۹۶	۳۸/۲۰	۶/۲۴
واریانس تجمعی	۵۳/۹۶	۹۲/۱۶	۹۸/۳۹



شکل ۲. بای پلات حاصل از تجزیه به مختصات اصلی جمعیت‌های سبب مورد مطالعه در بیماری سفیدک

بحث

همانطور که نتایج نشان می‌دهد فاصله بین دورترین و نزدیکترین جمعیت‌ها خیلی کم می‌باشد که این نتیجه نشان دهنده تنوع کم بین جمعیت‌ها می‌باشد. با تلاقی این جمعیت‌ها با هم احتمال تولید نتاج قوی‌تر و متنوع‌تر وجود دارد. تجزیه کلاستر بین جمعیت‌ها، دندروگرام را به دو گروه تقسیم کرد که گویا تایید فاصله ژنتیکی مبنی بر تنوع کم بین جمعیت‌ها می‌باشد. از آنجا که تاکنون تحقیق چندانی در این خصوص انجام نگردیده است لذا به قطع نمی‌توان اظهار نظر کرد لیکن احتمال می‌رود تنوع کم بین جمعیت‌ها و تنوع زیاد درون جمعیتی به دلیل منشا مشترک جمعیت‌ها بوده که به مرور در اثر جهش، انتقال ژنی و... درون جمعیت‌ها تنوع ایجاد کرده باشد. تداخل گرده‌افشانی جمعیت‌ها با هم به مرور زمان می‌تواند دلیل دیگری بر این موضوع باشد. همچنین تجزیه به مختصات اصلی، جمعیت‌های سیب مورد بررسی در بیماری سفیدک را به ۵ گروه تقسیم کرد که تا حدودی فاصله ژنتیکی مبنی بر تنوع کم بین جمعیت‌ها را تایید می‌کند.

منابع

۱. جعفرپور، م. ۱۳۷۱. بیماری شناسی درختان. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. شماره ۱۲۱. ۳۳۵ صفحه
۲. خدیوی، ع. ۱۳۹۰. میوه کاری (عمومی و خصوصی). انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. ویرایش جدید. چاپ دوم.
۳. خواجه پور، م. ۱۳۸۴. تولید گیاهان صنعتی. انتشارات جهاد دانشگاهی دانشگاه اصفهان. ۵۸۰ صفحه
۴. آمارنامه جهاد کشاورزی. سال ۱۳۹۱
5. Murray HG, Thompson WF (1980). Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acid Res* 8:4321-4325.
6. Williams, J. G., kubelik, A. R., livak, K. J., Rafalski, J. A. and Tingey, S. V., 1990, DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are usefol as genetic markers *nucl. Acids. Res.*, Vol. 18, pp. 6531-6535.

Grouping and genetic diversity determining of Esfahan Province population based on resistant gene to Powdery mildew by specific molecular marker (SCAR)

M. Rabbani^{1*}, M. kamelmanesh²

1. M.Sc. student of physiology and breeding of fruit trees, Islamic Azad university of Shiraz. Shiraz, Iran. 2. Assistant professor, Dep. of plant pathology, Islamic Azad university of Shiraz, Shiraz, Iran.

*coressponding author: marziehrabbani@yahoo.com

Abstract

Breeding to achieve stable resistance of the ways in which particular is attention. Resistance to breeding resulted in the loss of your plant by plant pathogens. Grouping and analysis of alleles of 10 apple Esfahan province population was evaluated using primers SCAR connected to powdery mildew. Genetic distances were calculated using Nie coefficients and cluster analysis was performed using the UPGMA algorithm and 10 of the apples population divided in the 2 groups. Principal coordinate analysis also revealed 3 factors, In total, more than 98.39% of the variation could be demonstrated. The results of the analysis of the principal coordinates bi plot are divided the population into groups. In general results showed that good diversity of primers attached to the disease gene between populations is absent And to produce stronger offspring is better in terms of cross-resistance within populations.

Key words: apple powdery mildew, principal coordinate analysis, cluster analysis, Scar