

تعیین سطوح پلوئیدی ژنوتیپ‌های منسوب به پرشین لایم در ایران

حامد حسن‌زاده خانکهدانی^۱، سمیه رستگار^{۲*}، بهروز گل‌عین^۳، مرتضی گل‌محمدی^۳ و عبدالحسین ابوطالبی جهرمی^۴
^۱دانشجوی دکتری باغبانی دانشگاه هرمزگان و کارشناس بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی
و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس
^۲بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس
^۳پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رامسر
^۴بخش علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
*نویسنده مسئول: srastegar2008@gmail.com

چکیده

پرشین لایم یا تاهیتی لایم یا بیرس لایم (*Citrus latifolia* Tanaka) یک دورگ تریپلوئید و متحمل‌ترین گونه لایم به جاروک لیموترش است. در برخی مناطق جنوبی ایران برخی باغداران لفظ لیمومصری را برای پرشین لایم به کار می‌برند. از طرفی نوعی لایم شبیه به مکزیکن لایم با تاج کوچک‌تر، خارهای کمتر و میوه درشت‌تر در منطقه جهرم تکثیر و تولید می‌شود که به آن نیز لیمومصری گفته می‌شود. این نوع لایم در واقع یک ژنوتیپ حاصل از دانه‌های جنسی مکزیکن لایم است و اطلاق نام مصری به این تیپ لیموترش اشتباه است. در تحقیق حاضر بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از آزمایشات تعیین سطوح پلوئیدی، لیموی موسوم به مصری دیپلوئید بوده و کشت آن با عنوان مصری یا پرشین لایم در مناطق آلوده به جاروک لیموترش قابل توصیه نمی‌باشد. از طرفی اطلاق نام مصری به جای پرشین لایم، اصالت تاریخی این رقم را که حتی در دنیا به نام پرشین لایم یا لیموی ایرانی شناخته می‌شود، خدشه‌دار می‌کند. واژه‌های کلیدی: تعیین سطوح پلوئیدی، جنوب ایران، روزنه، لایم.

مقدمه

پرشین لایم یا تاهیتی لایم یا بیرس لایم با نام علمی *Citrus latifolia* Tanaka یک دورگ تریپلوئید است که سطح زیرکشت قابل توجه با میزان تولید قابل قبولی را در سال به خود اختصاص داده است (Cantuarias-Aviles *et al.*, 2012). طبق پژوهش‌های انجام شده، با وجود حضور فیتوپلاسمای عامل بیماری جاروک در درختان پرشین لایم، علایم بیماری و نیز خسارات ناشی از آن در طبیعت دیده نشده است (Salehi *et al.*, 2005). در حال حاضر چندین نوع پرشین لایم شامل پرشین لایم معمولی، بیرس لایم، دیپرس لایم و IAC در ایران وجود دارد. در برخی مناطق جنوبی ایران نظیر فارس و هرمزگان برخی باغداران لفظ لیمومصری را برای پرشین لایم به کار می‌برند. این در حالی است که بر اساس منابع، لیمومصری (Egyptian lime) در واقع همان لیموترش معمولی یا مکزیکن لایم (*C. aurantifolia*) است ولی از نظر ظاهری و شکل میوه شباهت‌هایی با پرشین لایم دارد و به‌نظر می‌رسد این نوع لیموترش در ایران موجود نباشد. لیمومصری در سال ۱۹۴۹ از فلسطین‌اشغالی به‌صورت یک دانه‌ال معرفی شد. میوه آن شبیه مکزیکن لایم ولی بزرگتر بوده و پوسته درونی بذر آن تیره است. با این وجود میوه این نوع لیمو به‌طور تجاری و در سطح وسیع در دسترس نمی‌باشد (Anonymous, 2002). پرشین لایم احتمالاً دورگ بین لایم و لمون یا بالنگ است. این گونه مرکبات تریپلوئید و بی‌بذر بوده و یا به‌ندرت تولید بذر می‌کند (Singh *et al.*, 2002). سطوح پلوئیدی گیاهان را می‌توان با استفاده از روش‌های مستقیم نظیر شمارش کروموزومی یا روش‌های غیرمستقیم نظیر فلوسایتومتری، تراکم و اندازه روزنه، شمارش کلروپلاست سلول محافظ روزنه و صفات مورفولوژی تعیین نمود (Padoan *et al.*, 2013). علاوه بر ویژگی‌های بارز پرشین لایم و پتانسیل رقابتی میوه آن با مکزیکن لایم، تحمل این گونه به بیماری جاروک لیموترش از

مهم‌ترین دلایل گرایش به افزایش سطح زیرکشت آن در مناطق جنوبی کشور است. بر این اساس برای توسعه باغ‌های پرشین‌لایم در مناطق آلوده به جاروک لیموترش، تعیین اصالت این‌گونه مرکبات و جلوگیری از گسترش سطح زیرکشت تیپ‌های مشابه پرشین‌لایم که در تحمل آن‌ها به این بیماری تردید وجود دارد، ضروری به نظر می‌رسد. در این راستا، پژوهش حاضر با هدف تعیین سطوح پلوییدی انواع مرکبات منسوب به گونه *C. latifolia* و تعیین اصالت آن‌ها به مرحله اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی سطوح پلوییدی انواع پرشین‌لایم و مکزیکن‌لایم موجود در ایران، جهت اطمینان از اصالت آن‌ها، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیپ منسوب به گونه *C. latifolia* Tanaka، به همراه مکزیکن‌لایم (*C. aurantifolia* Swingle) به‌عنوان گیاهان استاندارد دیپلوئید و یک ژنوتیپ حاصل از دانه‌های جنسی مکزیکن‌لایم موسوم به مصری (جمعاً ۷ نوع مرکبات) در سال ۱۳۹۴ اجرا شد. بدین منظور نمونه‌های برگ از انواع لایم مذکور از استان‌های هرمزگان، فارس و مازندران، برای بررسی‌های مورفولوژی برگ، شمارش روزنه و کیسه ترش‌چی و آزمایش فلوسایتومتری جمع‌آوری شدند. ابعاد برگ شامل طول و عرض برگ محاسبه شد. با تهیه اپیدرم از سطح زیرین برگ با استفاده از برق ناخن، تعداد روزنه به‌وسیله میکروسکوپ در بزرگنمایی $100\times$ شمارش گردید. کیسه‌های ترش‌چی، با قرار دادن برگ روی لام، در بزرگنمایی $4\times$ شمارش گردید. برای تعیین سطح پلوییدی از دستگاه فلوسایتومتری (Partec PA, Germany) استفاده شد. تجزیه و تحلیل سطح پلوییدی با استفاده از شاخص DNA انجام شد (Bakhshi *et al.*, 2010). محتوای DNA در نمونه‌های مورد بررسی محاسبه (Seker *et al.*, 2003) و براساس آن گروه‌بندی دیپلوئید یا تریپلوئید بودن نمونه‌ها انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین ابعاد برگ نشان داد که تیپ موسوم به مصری و مکزیکن‌لایم دارای کمترین طول و عرض برگ بودند. در مقابل طول و عرض برگ در انواع پرشین‌لایم بیشتر از بقیه گونه‌های مورد بررسی بود. بیشترین طول برگ در IAC و بیرس‌لایم مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین ابعاد برگ در گونه‌های دیپلوئید و تری‌پلوئید مرکبات مورد بررسی

تیپ گیاهی	ابعاد برگ	طول برگ (میلی‌متر)	عرض برگ (میلی‌متر)	تراکم روزنه	تراکم کیسه ترش‌چی
پرشین‌لایم		۸۷ ^b	۵۶ ^b	۷/۷ ^c	۲۱/۷ ^c
تاهیتی‌لایم «استاندارد تریپلوئید»		۸۵ ^b	۴۷ ^c	۱۰/۳ ^b	۲۵/۷ ^d
دیپرس‌لایم		۸۳ ^b	۴۷ ^c	۹/۲ ^{bc}	۲۷/۰ ^d
IAC		۱۱۳ ^a	۶۷ ^a	۷/۸ ^c	۳۷/۰ ^c
بیرس‌لایم		۱۲۰ ^a	۶۷ ^a	۷/۷ ^c	۲۹/۰ ^d
مکزیکن‌لایم «استاندارد دیپلوئید»		۷۴ ^c	۴۰ ^d	۱۲/۳ ^a	۴۷/۰ ^b
موسوم به مصری		۵۹ ^d	۳۹ ^d	۱۳/۰ ^a	۶۴/۰ ^a

میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱ درصد آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

مقایسه میانگین تراکم روزنه در برگ نشان داد که بیشترین تعداد روزنه، به ترتیب مربوط به لیموی موسوم به مصری و مکزیکن‌لایم بود. انواع پرشین‌لایم به‌طور متوسط بین ۷/۷ تا ۱۰/۳ روزنه در واحد سطح داشتند که به‌طور معنی‌داری کمتر از دو نوع اول بود (جدول ۱). اکثر پژوهشگران گزارش کردند که با افزایش سطح پلوییدی، تعداد روزنه در واحد سطح برگ کاهش می‌یابد (Padoan *et al.*, 2013). مقایسه میانگین تراکم کیسه ترش‌چی در برگ نشان

داد که بیشترین تعداد کیسه ترش‌چی به ترتیب مربوط به لیموی موسوم به مصری و مکزیکن‌لایم بود. به نظر می‌رسد این نوع مرکبات حاصل از دانه‌های جنسی مکزیکن‌لایم باشند که قرابت ژنتیکی نزدیکی با آن نشان می‌دهند. انواع پرشین‌لایم به‌طور متوسط بین ۲۱/۷ تا ۳۷/۰ کیسه ترش‌چی در واحد سطح داشتند که به‌طور معنی‌داری کمتر از مکزیکن‌لایم و لیموی موسوم به مصری بود (جدول ۱). نتایج فوق با یافته‌های یک تحقیق (Afshar-Mohammadian et al., 2013) روی لیموترش مطابقت دارد.

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه فلوسایتومتري نشان داد که مُد هیستوگرام برای نمونه استاندارد دیپلوئید (مکزیکن‌لایم) ۴۸ و برای نمونه استاندارد تریپلوئید (تاهیتی‌لایم) ۶۷ بود (جدول ۲). از نظر نسبت محتوای DNA، که از تقسیم محتوای DNA نمونه تریپلوئید (۱/۱۷۰ پیکوگرم) به محتوای DNA نمونه مورد بررسی حاصل شد و با توجه به این‌که این نسبت در نمونه استاندارد دیپلوئید (مکزیکن‌لایم) برابر ۱/۳۹۶ بود، چنین استنباط می‌شود که تیپ‌های گیاهی که مقدار نسبت محتوای DNA آن‌ها بیشتر یا مساوی ۱/۳۹۶ بود، از نظر سطح پلوئیدی، دیپلوئید بودند. بنابراین در این بررسی، لیموی موسوم به مصری و مکزیکن‌لایم دیپلوئید و بقیه تریپلوئید بودند (جدول ۲).

جدول ۲- پارامترهای خروجی از دستگاه فلوسایتومتري و شاخص و محتوای DNA در نمونه‌های مورد بررسی

تیپ گیاهی	مُد	میانگین	محتوای DNA (پیکوگرم)	نسبت محتوای DNA	شاخص DNA	سطح پلوئیدی
پرشین‌لایم	۶۵	۶۳/۸۹	۱/۱۱۷	۱/۰۴۷	۱/۳۵۴	۳X
تاهیتی‌لایم	۶۷	۶۶/۹۱	۱/۱۷۰	۱/۰۰۰	۱/۳۹۶	۳X
دیپرس‌لایم	۶۵	۶۴/۵۵	۱/۱۲۹	۱/۰۳۷	۱/۳۵۴	۳X
IAC	۶۶	۶۵/۷۲	۱/۱۴۹	۱/۰۱۸	۱/۳۷۵	۳X
بیرس‌لایم	۶۴	۵۹/۰۰	۱/۰۳۲	۱/۱۳۴	۱/۳۳۳	۳X
مکزیکن‌لایم	۴۸	۴۷/۹۴	۰/۸۳۸	۱/۳۹۶	۱/۰۰۰	۲X
موسوم به مصری	۴۸	۴۶/۳۰	۰/۸۱۰	۱/۴۴۵	۱/۰۰۰	۲X

نسبت محتوای DNA = نسبت محتوای DNA نمونه تریپلوئید (تاهیتی‌لایم) به نمونه‌های مورد بررسی، شاخص DNA = نسبت مُد نمونه مورد بررسی به مُد نمونه دیپلوئید (مکزیکن‌لایم).

براساس شاخص DNA نیز مشخص شد که لیموی موسوم به مصری دیپلوئید بود. شاخص DNA در نمونه‌های دیپلوئید برابر ۱/۰۰۰ بود. مقدار شاخص DNA در نمونه‌های تریپلوئید ۱/۳۳۳-۱/۳۹۶ بود (جدول ۲). به‌طور کلی، نسبت محتوای DNA در تیپ‌های تریپلوئید به دیپلوئید برابر ۱/۳۵۸ بود. با توجه به این‌که محتوای ژنوم در گیاهان تریپلوئید ۱/۵ برابر محتوای ژنوم در گیاهان دیپلوئید است، می‌توان نتایج حاصل از گروه‌بندی دیپلوئید و تریپلوئید را موثق دانست. در مطالعات انجام‌شده مشابه قبلی در مرکبات نیز، براساس محتوای DNA نسبت به نمونه معلوم و یا براساس شاخص DNA (DNA Index) سطح پلوئیدی گیاهان مورد بررسی تخمین زده شد. در یک تحقیق با در دست داشتن محتوای DNA گیاه استاندارد تریپلوئید (تاهیتی‌لایم)، سطح پلوئیدی پایه‌های دانه‌های مرکبات دیپلوئید گزارش شد (Seker et al., 2003).

نتیجه‌گیری کلی

پرشین‌لایم (*C. latifolia* Tanaka) در طبیعت و نیز در آزمایش‌های مایه‌زنی، علائم بیماری جاروک نشان نداده و به‌عنوان یک منبع تحمل مطرح است. در چند سال اخیر، با توجه به تقاضای باغداران جنوب ایران، توسعه کشت پرشین‌لایم در دستور کار قرار گرفته و تولیدکنندگان نهال اقدام به تولید این‌گونه مرکبات روی پایه‌های مختلف نموده‌اند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، کشت لیموی موسوم به مصری با این عنوان و به‌جای پرشین‌لایم در مناطق آلوده به جاروک لیموترش قابل توصیه نبوده و همچنین به‌کار بردن واژه لیمومصری به جای پرشین‌لایم، به اصالت تاریخی این رقم، که در دنیا با عنوان لیموی ایرانی شناخته می‌شود، خدشه وارد می‌کند.

منابع

- Afshar-Mohammadian, M., Omidi, Z., Purakbari-kasmaei, R. and Asadi-Abkenar, A. 2013.** The effect of polyploidy on some anatomical and antioxidant characteristics of *Citrus aurantifolia*. Journal of Plant Researches (Iranian Journal of Biology), 26(3): 238-246. (In Persian)
- Anonymous. 2002.** Citrus variety collection: Egyptian lime. University of California Riverside, CRC 2883, PI 185427.
- Bakhshi, B., Aghaei, M.J., Bihamta, M.R., Darvish, F. and Zarifi, E. 2010.** Ploidy determination of *Aegilops cylindrica* host accessions of Iran by using flow cytometry and chromosome counting. Iran. J. Bot., 16(2): 258-266.
- Cantuarias-Aviles, T., Filhoa, F.A.A.M., Stuchi, E.S., da-Silva, S.R., Espinosa-Nuneza, E. and Neota, H.B. 2012.** Rootstocks for high fruit yield and quality of 'Tahiti' lime under rain-fed conditions. Scientia Horticulturae, 142: 105-111.
- Padoan, D., Mossad, A., Chiancone, B., Germana, M.A. and Valli Khan, P.S.S. 2013.** Ploidy levels in *Citrus clementine* affect leaf morphology, stomatal density and water content. Theoretical and Experimental Plant Physiology, 25(4): 283-290.
- Salehi, M., Nejat, N., Tavakoli, A.R. and Izadpanah, K. 2005.** Reaction of *Citrus* cultivars to *Candidatus* Phytoplasma aurantifolia in Iran. Journal of Plant Diseases, 41: 363-376. (In Persian)
- Seker, M., Tuzcu, O. and Ollitrault, P. 2003.** Comparison of nuclear DNA content of citrus rootstock populations by flow cytometry analysis. Plant Breeding, 122: 169-172.
- Singh, A., Nagvi, S.A.M.H. and Singh, S. 2002.** Citrus germplasm, cultivars and rootstocks. Kalyani Publishers, New Delhi-110002. 166 pp.
- Ye, Y.M., Tong, J., Shi, X.P., Yuan, W. and Li, G.R. 2010.** Morphological and cytological studies of diploid and Colchicine-induced tetraploid lines of crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.). Scientia Horticulturae, 124: 95-101.

IrHC 2017
T e h r a n - I r a n

Ploidy Levels Determination Of The Related Accessions To Persian Lime In Iran

Hamed Hassanzadeh Khankahdani¹, Somayeh Rastegar^{2*}, Behrouz Golein³, Morteza Golmohammadi³ and Abdolhossein Aboutalebi Jahromi⁴

¹Ph.D Candidate of Horticulture, Hormozgan University and Specialist of Horticulture Crops Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Bandar Abbas. ²Department of Horticultural Science, Agriculture and Natural Science College, University of Hormozgan. ³Citrus and Subtropical Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ramsar.

⁴Horticulture Department, Jahrom Branch, Islamic Azad University.

*Corresponding Author: srastegar2008@gmail.com

Abstract

Persian lime also known as Tahitian lime or Bears lime (*Citrus latifolia* Tanaka) is a triploid hybrid, which it is the most tolerant lime species against witches broom disease of lime. In the some southern regions of Iran, some gardeners use “Limoo Mesri” term for Persian lime. On the other hand, there is a type of lime similar to Mexican lime in Jahrom region having smaller crown, fewer thorn and larger fruit, which is called “Limoo Mesri”. This type of lime truly is a derived genotype from sexual seedlings of Mexican lime and to release Egyptian (Mesri) name is wrong. In the present study, according to the obtained results from the experiments of ploidy level determination, “Limoo Mesri” is diploid and its cultivation is not recommended as Egyptian (Mesri) or Persian lime in the infected regions with WBDL. Moreover, application of Egyptian (Mesri) name instead of Persian lime tarnishes historical validity of this species in which it is known as Persian lime in the world.

Keywords: Lime, Ploidy level, South of Iran, Stomata.

IrHC 2017
Tehran - Iran