

ارزیابی گوناگونی ژنتیکی در بین برخی ژنوتیپ‌های چای منطقه لاهیجان با استفاده از نشانگرهای مورفولوژی

شاهین جهانگیرزاده خیای^{۱*}، آزاده پیشداد^۲، مانیا محقق منتظری^۲، سیاوش مظفری^۲

^۱ پژوهشکده چای، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران؛

^۲ گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

* نویسنده مسئول: shjahangirzadeh@gmail.com

چکیده

چای (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) یکی از مهم‌ترین محصولات منطقه شمال ایران می‌باشد از آنجاکه امروزه بسیاری از بوته‌های چای منطقه به دلایل مختلف در معرض از بین رفتن قرار دارند، بنابراین داشتن اطلاعات درباره ژنتیک آن برای طراحی برنامه‌های اصلاحی جهت دستیابی به گیاهان مناسب و با اهداف خاص کمک شایانی است. در این بررسی ۳۰ درختچه چای از سه منطقه با استفاده از ۱۲ صفت مورفولوژیکی مورد بررسی تنوع ژنتیکی قرار گرفتند. بر اساس داده‌های حاصل نمونه‌های در پنج گروه قرار گرفتند که تمام گروه‌ها به جز گروه پنجم تعداد محدودی از نمونه‌ها را شامل بودند و گروه اصلی شناسایی شده (گروه ۵) حدود ۷۴ درصد کل نمونه‌ها را در بر داشت. بر اساس این نتایج خوشه‌بندی مشخص گردید که گروه‌بندی‌های گیاهان در خوشه‌های بدست آمده از این بررسی با توزیع جغرافیایی هم‌خوانی ندارد و از سوی دیگر تنوع مورفولوژیکی بالایی نیز در بین گیاهان بدست نیامد.
کلمات کلیدی: چای، تنوع ژنتیکی، نشانگر مورفولوژیکی، کلاستر

مقدمه

گیاه چای با نام علمی *Camelliasinensis*(L.)O.Kuntze از خانواده Theaceace، یکی از قدیمی‌ترین گیاهان نوشابه‌ای غیرالکلی حاوی کافئین در دنیا می‌باشد. اساس و پایه ژنتیکی چای تحت کشت در ایران از سه واریته بذری با نام‌های Betjan، Dhonjan و Rajghur می‌باشد (احمدی شاد و همکاران، ۱۳۸۸). چای گیاهی با گرده‌افشانی آزاد می‌باشد و برای معرفی کلونی‌های جدید از روش انتخاب ژنوتیپ‌های برتر و تکثیر آن‌ها با روش‌های غیرجنسی (رویشی) استفاده می‌گردد (Jamal Omid, 2000). برای شناسایی ژنوتیپ‌های برتر نیاز به بررسی تنوع مابین ژنوتیپ‌های موجود می‌باشد. یکی از ساده‌ترین ابزار برای بررسی تنوع موجود مابین نمونه‌ها استفاده از نشانگرهای مورفولوژی می‌باشد. نشانگرهای مورفولوژیکی عمدتاً متناظر با صفاتی هستند که پیامد جهش‌های قابل‌رؤیت در مورفولوژی DNA می‌باشند. نشانگرهای مورفولوژی جز اولین نشانگرهایی هستند که مورداستفاده محققین قرار گرفته‌اند. این نشانگرها در جمعیت‌های طبیعی یافت می‌شوند و یا در نتیجه آزمایشات جهش‌زایی تولید می‌شوند. نشانگرهای مورفولوژیکی دارای توارث همباز هستند (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). از نشانگرهای مورفولوژی برای بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان متعددی استفاده شده است (Campos et al., 2005; Koehler-Santos et al., 2003; Susandarini et al., 2013; علی‌پور و غفاری موفق، ۱۳۹۰، سلیم پور و همکاران، ۱۳۹۰). از این دسته نشانگرها در چای نیز استفاده شده است که توانسته به خوبی تنوع را نشان دهد (Phong et al., 2016; Subramani et al., 2010; Rajkumar et al., 2010; Vo, 2006).

بر اساس خصوصیات برگ و رشدی گیاه چای به دو دسته چای چینی (*C. sinensis* var. *sinensis*) و چای آسام (*C. sinensis* var. *assamica*) تقسیم شده است (Sealy, 1958). این گروه‌بندی توسط ویت در سال ۱۹۶۲ مجدداً تأیید شده است با این تفاوت که نوع چای آسامی را با نام *C. assamica* معرفی نموده است. فونگ و همکاران (Phong et al., 2016) نیز با کاربرد نشانگرهای مورفولوژی همراه با نشانگر iPBS نتایج مشابهی گرفتند و بیان نمودند که با استفاده از این نشانگرها نتایج مشابه گزارش‌های گذشته در ارتباط با طبقه‌بندی گیاه‌شناسی چای حاصل می‌گردد. در بررسی اعلام شده است که صفات وابسته به برگ می‌توانند

مابین ارقام و نمونه‌های چای، تفاوت‌ها را به‌خوبی نشان دهند بنابراین از این صفات می‌توان برای شناسایی انواع ارقام استفاده کردند (Rajkumar et al., 2010).

هدف کلی تحقیق حاضر مطالعه و بررسی میزان تنوع ژنتیکی موجود گیاه چای در منطقه لاهیجان به‌عنوان مرکز تولید چای کشور به‌وسیله نشانگرهای مورفولوژی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس داده‌های مورفولوژیکی در سه منطقه چای‌کاری شامل کاه‌بیجار، کته‌شال و شیخ زاهد لاهیجان تعداد ۱۲ صفت شامل ۳ صفت کمی و ۹ صفت کیفی مرتبط با برگ و بوته مورد بررسی قرار گرفتند. صفات مورد بررسی بر اساس توصیف‌نامه معرفی‌شده توسط موسسه بین‌المللی مخازن ژنتیکی گیاهان (IPGRI) انتخاب شده بودند (IPGRI, 2000). داده‌های حاصل جهت بررسی ابتدا توسط نرم‌افزار Ntsys و ضریب YBAR استانداردسازی شده و سپس توسط همین نرم‌افزار ماتریس تشابه دوبه‌دو بر اساس ضریب اقلیدسی محاسبه گردید. جهت طراحی کلاستر بر اساس ماتریس تشابه از الگوریتم UPGMA در نرم‌افزار Ntsys استفاده شد. جدول ۱ کدبندی نمونه‌های چای مورد بررسی در این پژوهش و محل جمع‌آوری آن‌ها را نشان می‌دهد (Rohlf, 2000).

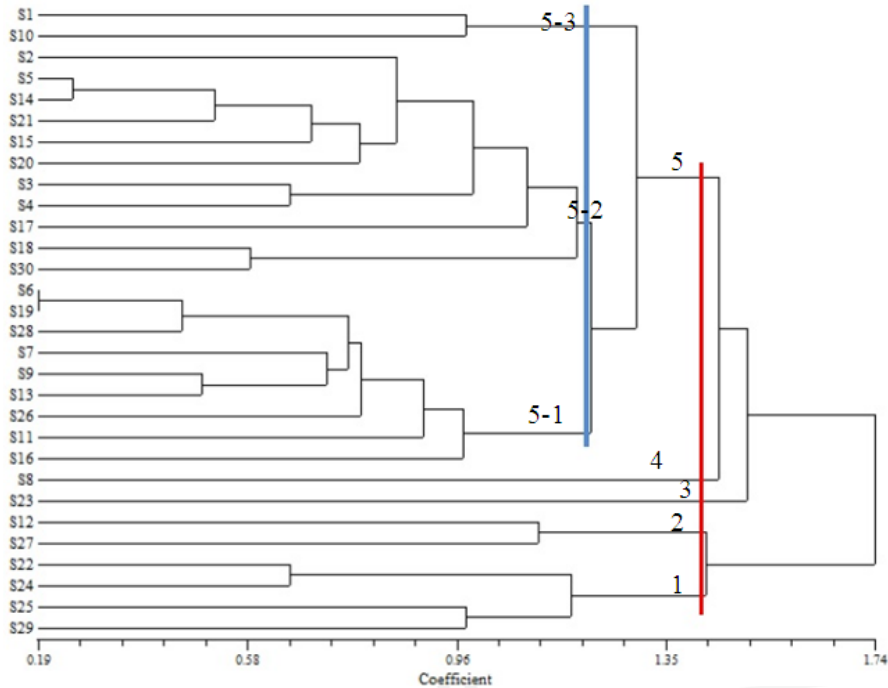
جدول (۱) کدبندی نمونه‌های چای مورد بررسی در این پژوهش و محل جمع‌آوری آن‌ها.

ردیف	کد نمونه	منطقه نمونه‌گیری	ردیف	کد نمونه	منطقه نمونه‌گیری
۱	G1	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۱۶	G16	لاهیجان (روستای کته‌شال)
۲	G2	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۱۷	G17	لاهیجان (روستای کته‌شال)
۳	G3	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۱۸	G18	لاهیجان (روستای کته‌شال)
۴	G4	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۱۹	G19	لاهیجان (روستای کته‌شال)
۵	G5	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۲۰	G20	لاهیجان (روستای کته‌شال)
۶	G6	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۲۱	G21	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۷	G7	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۲۲	G22	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۸	G8	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۲۳	G23	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۹	G9	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۲۴	G24	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۱۰	G10	لاهیجان (روستای کوبیجار)	۲۵	G25	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۱۱	G11	لاهیجان (روستای کته‌شال)	۲۶	G26	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۱۲	G12	لاهیجان (روستای کته‌شال)	۲۷	G27	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۱۳	G13	لاهیجان (روستای کته‌شال)	۲۸	G28	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۱۴	G14	لاهیجان (روستای کته‌شال)	۲۹	G29	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)
۱۵	G15	لاهیجان (روستای کته‌شال)	۳۰	G30	لاهیجان (باغات شیخ زاهد)

نتایج و بحث

شناسایی نمونه‌ها بر اساس توصیف‌نامه IPGRI برای مورفولوژی برگ نمونه‌های چای سه منطقه کاشت این درخت صورت گرفت. تمام نمونه‌های چای گزینش شده از نظر مورفولوژی مشابه یکدیگر بودند، اگرچه برخی از آن‌ها تفاوت‌های کوچک و کمی در ویژگی‌های مانند زاویه شاخه، شکل نوک برگ، شکل حاشیه برگ، زاویه برگ با شاخه، رنگ برگ بالغ، سطح بالایی برگ از نظر صاف یا موجی، شکل پایه برگ (سمت دم‌برگ)، حاشیه پهنک، شکل پهنک و اندازه (طول و عرض) پهنک برگ نشان دادند. با بررسی آماری داده‌ها، PCA برای ویژگی‌ها محاسبه گردید تا تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صورت پذیرد که به علت کمتر از یک بودن تمام آن‌ها این نتیجه حاصل گردید که ویژگی‌های انتخاب شده با یکدیگر رابطه قوی ندارند. با بررسی کلاستر تهیه‌شده از داده‌های

مورفولوژی با روش های متفاوت (UPGMA و Ward method, Complete method, Median method, Single method) مشخص گردید که روش UPGMA بهترین حالت تفکیک و گروه بندی نمونه های مورد بررسی را انجام می دهد. همان طور که در نمودار (شکل ۱) مشاهده می گردد نمونه ها در ابتدا در سطح ۱/۴ به پنج گروه اصلی تقسیم گردیدند. گروه اول شامل ۴ نمونه (S22, S24, S25 و S29) بود که تمام آن ها متعلق به منطقه شیخ زاهد بودند. گروه دوم شامل دو نمونه (S12 و S27) بود. دو گروه سوم و چهار هر کدام تنها یک عضو داشتند. تنها عضو گروه سوم S23 و تنها عضو گروه چهارم S8 بود. گروه اصلی که در تجزیه کلاستر بدست آمد در واقع گروه پنجم بود که ۲۲ نمونه مورد بررسی را در بر داشت. نمونه های این گروه در سطح ۱/۲ به سه زیرگروه تقسیم شدند که زیرگروه اول شامل ۹ نمونه، زیرگروه دوم شامل ۱۱ نمونه و زیرگروه سوم تنها دو نمونه را شامل می شدند. هیچ کدام از این زیرگروه ها مختص به منطقه جغرافیایی خاصی نبودند.



شکل ۱- کلاستر حاصل از داده های مورفولوژی برای گروه بندی نمونه های مورد بررسی

به طور کلی نتایج حاصل از کاربرد نشانگر مورفولوژی بیان می دارد که اختلافات زیادی مابین نمونه های چای کشت شده در مناطق چای کاری وجود ندارد. مشاهدات گذشته نیز نتایج مشابهی را بیان نموده اند (Rajkumar et al., 2010 و Phong et al., 2016). البته برای بیان این موضوع به طور دقیق و با دقت بالاتر نیاز به بررسی تعداد نمونه های بالاتر و همچنین نشانگرهای بیشتر و با دقت بالاتر مانند SSR، ISSR و AFLP می باشد.

منابع

- احمدی شاد، م.ع.، کاظمی تبار، س.ک.، بابائیان جلودار، ن.ع. و غلامی، م. ۱۳۸۸. ارزیابی تنوع ژنتیکی کلون های زراعی چای در ایران با استفاده از نشانگر مولکولی رپید. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، ۱ (۴): ۶۵-۷۶
- سلیم پور، الف.، عبادی، ع.، فتحی مقدم، م.ر. و بی همتا، م.ر. ۱۳۹۰. ارزیابی تنوع ژنتیکی در تعدادی از ژنوتیپ های بادام با استفاده از صفات مورفولوژیک. مجله علوم باغبانی ایران، ۴۲ (۴): ۳۱۹-۳۲۷
- علی پور، ح. و غفاری موفق، ف. ۱۳۹۰. مطالعه ژنتیکی ارقام پسته ایرانی با استفاده از صفات مورفولوژیک. مجله علوم باغبانی ایران، ۴۲ (۱): ۸۲-۷۳
- نقوی، م. ر.، ب. قره یاضی و ق. حسینی سالکده. ۱۳۸۸. نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران. ۳۴۰ صفحه.
- Campos, E.T., Espinosa, M.A.G., Warburton, M.L., Varela, A.S. and Monter, A.V., 2005. Characterization of mandarin (*Citrus spp.*) using morphological and AFLP markers. *INTERCIENCIA-CARACAS*-, 30(11), p.687.
- IPGRI. 2000. Descriptors for tea. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, Available at: <http://www.cgiar.org/ipgri/>

- Jamal Omidi, M.** 2000. Determinate relationship and chemotaxonomy investigation of different tea cultivar (*Camellia sinensis*) in Iran. M.S thesis in plant science. Science Faculty of Uromiyh University. 128 p.
- Koehler-Santos, P., Dornelles, A.L.C. and Freitas, L.B.D.,** 2003. Characterization of mandarin citrus germplasm from Southern Brazil by morphological and molecular analyses. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38(7), pp.797-806.
- Phong, N.H., Pongnak, W., Soyong, K., Poeaim, S. and Poeaim, A.,** 2016. Diversity of Tea (*Camellia sinensis*) Grown in Vietnam based on Morphological Characteristics and Inter-primer Binding Sites (iPBS) Marker. *International Journal of Agriculture & Biology*, 18(2).
- Rajkumar, S., S. Karthigeyan, Rakesh K. Sud, R. Rajkumar, N. Muraleedaran, Suresh C. Das, M. Hazarika and Paramvir S. Ahuja,** 2010. Genetic diversity of Indian tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) germplasm detected using morphological characteristics. *J. Cell Plant Sci.*, 1: 13-22
- Rohlf FJ.** 2000. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. version 2.1. Exceter Software, New York, p 75
- Sealy, J.,** 1958. *A Revision of the Genus Camellia*, p: 239. Royal Horticultural Society, London
- Subramani, R., K. Subramanian, K.S.U.D. Rakesh, R. Rajagopal, N. Muraleedaran, C.D. Suresh, H. Mridul and S.A. Paramvir,** 2010. Genetic diversity of Indian tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) germplasm detected using morphological characteristics. *J. Cell Plant Sci.*, 1: 13-22
- Susandarini, R., Subandiyah, S., Daryono, B.S. and Nugroho, L.H.,** 2013. Assessment of taxonomic affinity of Indonesian pummel (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) based on morphological characters. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 8(3), p.182.
- Vo, T.D.,** 2006. Assessing genetic diversity in Vietnam tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) using morphology, inter-simple sequence repeat (ISSR) and microsatellite (SSR) markers, *Ph.D. Dissertation*, p: 141. Faculty of Agricultural Science, Georg-August University Göttingen, Germany-Goettingen
- Wight, W.,** 1962. Tea classification revised. *Curr. Sci.*, 31: 298-299

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

Assessment of Genetic Variation among Some Tea Genotypes from Lahijan by using Morphological Markers

Shahin Jahangirzadeh Khiavi^{1*}, Azade Pishdad², Mania Mohaghegh Montazeri², Siavash Mozafari², Homeira chaichi siyahkali¹

¹Tea Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran;

² Department of Biotechnology, Islamic Azad university, Lahijan branch, Lahijan, Iran

*Corresponding author: shjahangirzadeh@gmail.com

Abstract

Tea (*Camellia sinensis*(L.) O. Kuntze) is one of most important crop in north of Iran. Today's, many of these plants are at risk of disappearing therefore having information about genetic of them can help in designing of genetic resources conservation and breeding programs. In this study, genetic diversity of 30 tea plants from three districts was studied by using 12 morphological traits. According to the data, samples were placed in five groups which except fifth group the others contained limited number of samples. The main group (group five) contained 74% of all samples approximately. Based on the results, clustering showed that grouping of samples was not match with the geographic distribution and we were not found high level of morphological diversity in tea plants.

Keywords: Tea, Genetic Diversity, morphological Markers, cluster

