بررسی تنوع ژنتیکی برخی توده‌های گردوی بومی استان لرستان با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی

عارف مهبودی1* ، بهمن زاهدی 2, عبداله احتشام نیا 3

1- دانشجوی کارشناسی ارشد تولیدات گیاهی، دانشگاه لرستان، لرستان. 2- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه لرستان، لرستان. 3- گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه لرستان، لرستان

* عارف مهبودی

چکیده

گردوی ایرانی (Juglans regia L.) یکی از محصولات مهم باغبانی است و ایران یکی از مراکز مهم تنوع ژنتیکی آن می باشد. افزایش کمیت و کیفیت این محصول جهت صرفه اقتصادی و دستیابی به بازارهای جهانی از اهداف مهم اصلاح درختان گردو می‌باشد. تاریخچه طولانی کشت و کار گردو به صورت بذری تنوع شدیدی در درختان ایجاد کرده و سبب افزایش سطح هتروزیگوسیتی ژنوم آن به دلایلی مانند دگرگرده افشانی، دیکوگامی و گرده افشانی با باد شده است. بنابراین شناسایی اولیه ژرم پلاسم این گیاه با استفاده از نشانگرهای مختلف بسیار ضروری به نظر می رسد. در این مطالعه به منظور بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های گردوی بومی استان لرستان، 43 ژنوتیپ گردوی ایرانی از توده های الشتر، دورود، خرم آباد، بروجرد و نورآباد با اندازه گیری 35 صفت کمی و 49 صفت کیفی با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت. گروه بندی ژنوتیپ های گردوی ایرانی براساس صفات مورد مطالعه با استفاده از تجزیه خوشه ای انجام گرفت. تجزیه واریانس یکطرفه داده ها اختلاف معنی داری را بین ژنوتیپ های مناطق مختلف برای کلیه صفات مورد مطالعه به غیر از صفت درصد مغز پوست سخت نشان داد. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که ژنوتیپ های توده بروجرد و الشتر به ترتیب با 4/98 و 3/75 گرم بیشترین وزن مغز را داشتند. توده های الشتر و دورود به ترتیب دارای بیشترین میزان پروتئین (20/26 درصد) و چربی(64/10 درصد) بودند. بر اساس نتایج حاصل از رسم دندروگرام مربوط به ژنوتیپ‌های انتخابی در این مطالعه، ژنوتیپ‌ها از نظر مورفولوژیک در 5 گروه قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: گردو(Juglans regia L.)، نشانگر مورفولوژیک، تجزیه کلاستر

مقدمه

گردوی ایرانی درختی مهم و چند منظوره می باشد، به طوری که در باغبانی هم به خاطر میوه و هم در جنگل‌کاری برای چوب با ارزش آن و در داروسازی به‌عنوان یک گیاه دارویی و همچنین در احداث پارک‌ها می‌تواند به عنوان یک گیاه زینتی مورد استفاده قرار گیرد (Aradhya et al.,2006). در فلات ایران گردو در عرض جغرافیایی 29 تا 39 درجه شمالی و طول جغرافیایی 45 تا 64 درجه شرقی، از زمین های کم ارتفاع تا مناطقی با ارتفاع 2500 متر به صورت اهلی یا وحشی در شمال، غرب و مرکز کشور ایران یافت می شود (Leslie and Mcgranahan.,1998). ایران به عنوان خواستگاه اولیه پیدایش گردو محسوب می شود که بیانگر وجود بیشترین تنوع ژنتیکی در این سرزمین می باشد (Beede,1985).شناسایی و جمع آوری ارقام و ژنوتیپ های بومی درختان میوه، اولین گام در مسیر برنامه های اصلاحی آنها به شمار می آید و شناخت خصوصیات ژنتیکی گیاهان، موجب می شود کار بهنژادی با سرعت بیشتری صورت بگیرد (Ramos, 1997).

مهم‌ترین برنامه پس از جمع آوری ژنوتیپ‌ها، ارقام و گونه‌ها، شناخت خصوصیات و استعدادهای آن‌ها می باشد. هدف این تحقیق گروه بندی ژنوتیپ‌ها گردو براساس صفات کمی است. این تحقیق به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های گردو در برخی مناطق

استان لرستان می باشد که در آن برای شناسایی ژنوتیپ ها از یک سری صفات و نشانگرهای مورفولوژیک معرفی شده در توصیف نامه 1بانک ژن جهانی2 استفاده گردیده است.

ویژگی های مورفولوژیک به راحتی قابل رؤیت بوده و کاربرد عملی فراوانی دارند. اولین گام در شناسایی ژنوتیپ های محلی، شناسایی مورفولوژیک آن ها است (رضوی، 1377). در روش های کلاسیک طبقه بندی، برآورد تنوع در بین گیاهان، بر پایه ویژگی های مورفولوژیکی استوار است. با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک، می توان واریته ها را تا حدی شناسایی کرد. به دلیل دسترسی ساده به نشانگرهای مورفولوژیک و همچنین هزینه کم استفاده از آنها، کاربرد آنها ادامه دارد (Newbury and fordloid, 1993).

احتشام نیا (1387) تنوع مورفولوژیکی پنج جمعیت گردوی ایرانی بومی استان گلستان را مورد بررسی قرار داد. در این بررسی، 32 صفت کمی و 49 صفت کیفی 96 ژنوتیپ گردوی ایرانی با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که گردوهای مورد بررسی از نظر بسیاری از صفات مورد مطالعه دارای تنوع بالایی هستند.

مواد و روش ها

بر اساس نتایج تحقیقات مال ولتی و همکاران (1993)در این تحقیق نیز برای تعیین توده ها، درختانی که حداکثر 15 کیلومتر با هم فاصله داشتند، به عنوان یک توده در نظر گرفته شد. و بر اساس اطلاعات پراکنش گردوهای بومی در استان لرستان، پنج منطقه که دارای تراکم بالایی از درختان بود، شناسایی گردید. درختان هر منطقه (با رعایت فاصله مناسب از هم) انتخاب و پلاک کوبی شدند و در فواصل زمانی مناسب از هر کدام به طور تصادفی نمونه برداری انجام شد.

در مرحله اول در ابتدای فصل نحوه شکوفایی برگ، گل آذین و سایر مشخصلت درخت و برگ ثبت گردید. در مراحل بعد، از هر درخت 10-5 عدد برگ کامل و در نهایت در زمان رسیدگی دانه، 20-10 عدد میوه به طور تصادفی انتخاب شد و در پاکت های جداگانه ای قرار داده شد و برای اندازه گیری صفات به آزمایشگاه انتقال داده شد. در مجموع 20 صفت کمی وزن دانه سبز، وزن پوست سبز، وزن دانه با پوست سخت، چگالی دانه با پوست سبز، چگالی دانه با پوست سخت، وزن مغز، درصد مغز با پوست سبز، درصد مغز با پوست سخت، حجم دانه سبز، حجم دانه با پوست سخت، حجم مغز، ضخامت پوست سبز، ضخامت پوست سخت، طول برگ، عرض برگ، ارتفاع درخت، طول تنه درخت، عملکرد درخت، درصد پروتئین و درصد چربی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تجزیه کلاستر با استفاده از الگوریتم WARD براساس فاصله اقلیدسی بر روی داده های مورفولوژیک (20 صفت کمی) انجام گرفت. به منظور بررسی اختلاف بین ژنوتیپ های جمع آوری شده از مناطق مختلف، از نظر صفات مورد مطالعه، مناطق به عنوان تیمار و ژنوتیپ های داخل هر منطقه به عنوان تکرار آن منطقه درنظر گرفته شد. تجزیه واریانس یکطرفه برای تعیین تنوع مناطق مختلف انجام گردید. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن مورد بررسی قرار گرفت. برای محاسبات آماری از نرم افزارهای SAS(2002) و PAST(2001) استفاده شد.

1) Discriptor
2) IPGRI

نتایج و بحث

برای موفقیت بیشتر روش های اصلاحی شناسایی تنوع موجود در ژرم پلاسم از لحاظ صفات مورد نظر در جهت گزینش درست و هدفدار ضروری می باشد.

جهت تعیین تفاوت بین توده های گردو از لحاظ صفات مورد بررسی اقدام به تجزیه واریانس یکطرفه برای تعیین تنوع مناطق مختلف گردید. میانگین مربعات مناطق از لحاظ کلیه صفات مورد بررسی، غیر از صفت درصد مغز با پوست سخت اختلاف معنی داری را بین ژنوتیپ های مناطق مختلف نشان داد (جدول 1). مقایسه میانگین صفات کمی در مناطق مختلف در(جدول 2) نشان داده شده است.

جدول1)- تجزیه واریانس یکطرفه صفات مورفولوژیک کمی برای 5 توده گردوی بومی در استان لرستان

حجم دانه با پوست سخت(میلی متر مکعب)	حجم مغز(میلی متر مکعب)	ضخامت پوست سبز(میلی متر)	ضخامت پوست سخت(میلی متر)	طول برگ(سانتی متر)	عرض برگ(سانتی متر)	ارتفاع درخت(متر)	طول تنه درخت(متر)	عملکرد میوه با پوست سبز(کیلوگرم)	درصد پروتئین	درصد چربی
109107739**	32223005****	5/54**	0/106*	126/94**	53/89**	93/65****	49/21****	14970/15*	12/25****	24/25****
31752805	4594152	1/01	0/050	28/09	14/85	1/63	2/96	5940/69	0/37	1/10

میانگین مربعات صفات کمی

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن دانه سبز(گرم)	وزن پوست سبز(گرم)	وزن دانه با پوست سخت(گرم)	چگالی دانه با پوست سبز(میلی گرم بر میلی متر مکعب)	چگالی دانه با پوست سخت(میلی گرم بر میلی متر مکعب)	وزن مغز(گرم)	درصد مغز با پوست سبز	درصد مغز با پوست سخت	حجم دانه سبز(میلی متر مکعب)
بین مناطق	4	531/55****	279/53****	24/34****	0/0174****	0/0051*	3/33**	22/27**	42/57ns	871315693**
اشتباه آزمایشی	38	60/33	39/25	3/46	0/0008	0/0023	0/62	4/65	37/53	211489525

*،**،***،**** به ترتیب اختلاف در سطح 5 درصد، 1 درصد، 0/1 درصد و 0/01 درصد معنی دار است. ns نشان دهنده عدم معنی داری است

نتایج نشان داد که در ژنوتیپهای مورد بررسی، بعضی از صفات اقتصادی و مهم همانند درصد مغز با پوست سخت ژنوتیپ ها، دارای دامنه ای بین 58/61–26/49 درصد بود. بیشترین درصد مغز مربوط به ژنوتیپ های نورآباد و کمترین درصد مغز مربوط به ژنوتیپ های الشتر بود که منابع بسیار خوبی جهت اصلاح و تکثیر درختان پر مغز می باشند.23/ 70 درصد از ژنوتیپ ها بیش از 40 درصد مغز داشتند. متوسط وزن مغز هر میوه در ژنوتیپ ها بین 6/18-2/1 گرم بود که بیشترین میزان متوسط مغز مربوط به ژنوتیپ های بروجرد و کمترین مقدار متوسط مغز در ژنوتیپ های نورآباد بدست آمد. متوسط وزن دانه سبز بین 62/46-20/01 گرم و متوسط وزن دانه با

پوست سخت بین 16/72-4/63 گرم متغیر بود. درصد پروتئین مغز در ژنوتیپ ها بین 20/87-15/39 درصد و به طور متوسط 18/37 درصد بود. درصد روغن مغز در ژنوتیپ ها بین 65/21-54/83 درصد و به طور متوسط 59/79 درصد متغیر بود. ژنوتیپ های توده دورود و بروجرد به ترتیب دارای بیشترین میزان روغن بودند که منابع بسیار خوبی برای کارهای اصلاحی هستند. عملکرد دانه با پوست سبز ژنوتیپ ها بین 350/73-8/76 کیلوگرم متغیر بود که بیشترین و کمترین عملکرد به ترتیب مربوط به ژنوتیپ های الشتر و دورود بود.

جدول2)مقایسه میانگین صفات کمی در مناطق مختلف

مناطق	صفات کمی										
	حجم دانه سبز(میلی متر مکعب)	حجم دانه با پوست سخت(میلی متر مکعب)	حجم مغز(میلی متر مکعب)	ضخامت پوست سبز(میلی متر)	ضخامت پوست سخت(میلی متر)	طول برگ(سانتی متر)	عرض برگ(سانتی متر)	ارتفاع(متر)	طول تنه(متر)	عملکرد میوه با پوست سبز(کیلوگرم)
الشتر	71945ab	30249 b	9625 b	5/62 a	1/53 ab	44/67 a	34/48a	13/60 a	4/20 b	154/13 ab
بروجرد	83975ab	37272 a	13782 a	5/69 a	1/71 a	44/35 a	34/65 a	13/50 a	8/17 a	165/97 a
خرم آباد	68382ab	28623 b	9018 b	5/08 ab	1/54 ab	40/03ab	32/04ab	10/15 b	3/10 bc	96/07 ab
دورود	58014 b	27364 b	8508 b	4/14 bc	1/49 ab	36/99 b	29/18 b	6/14 c	1/33 c	84/47 ab
نورآباد	55286 b	27092 b	8104 b	3/86 c	1/32 b	37/01 b	29/94 b	9/45 b	1/71 c	68/37 b

مناطق	صفات کمی									
	وزن دانه سبز(گرم)	وزن پوست سبز(گرم)	وزن دانه با پوست سخت(گرم)	چگالی دانه با پوست سبز(میلی گرم بر میلی متر مکعب)	چگالی دانه با پوست سخت(میلی گرم بر میلی متر مکعب)	وزن مغز(گرم)	درصد مغز با پوست سخت	درصد مغز با پوست سبز	درصد پروتئین	درصد چربی
الشتر	39/12 ab	26/30 a	9/53 b	0/54 a	0/31 a	3/75 b	40/12 a	9/88 b	20/26a	59/11bc
بروجرد	46/03 a	26/78 a	12/13 a	0/54 a	0/32 a	4/98 a	41/34 a	10/85 b	19/14a	60/73b
خرم آباد	32/07 bc	18/56 b	8/10 bc	0/46 b	0/29 ab	3/19 b	39/54 a	10/29 b	15/78b	58/48c
دورود	26/16 c	15/33 b	8/21 bc	0/45 b	0/30 a	3/52 b	43/05 a	13/63 a	19/98a	64/10a
نورآباد	26/48 c	15/50 b	6/86 c	0/47 b	0/25 b	3/18 b	45/76 a	11/81 ab	16/67a	56/51d

ارزش غذایی محصولات خشکبار خصوصاً گردو، به میزان پروتئین و چربی آن ها بستگی دارد. ژنوتیپ های الشتر و دورود، با میزان

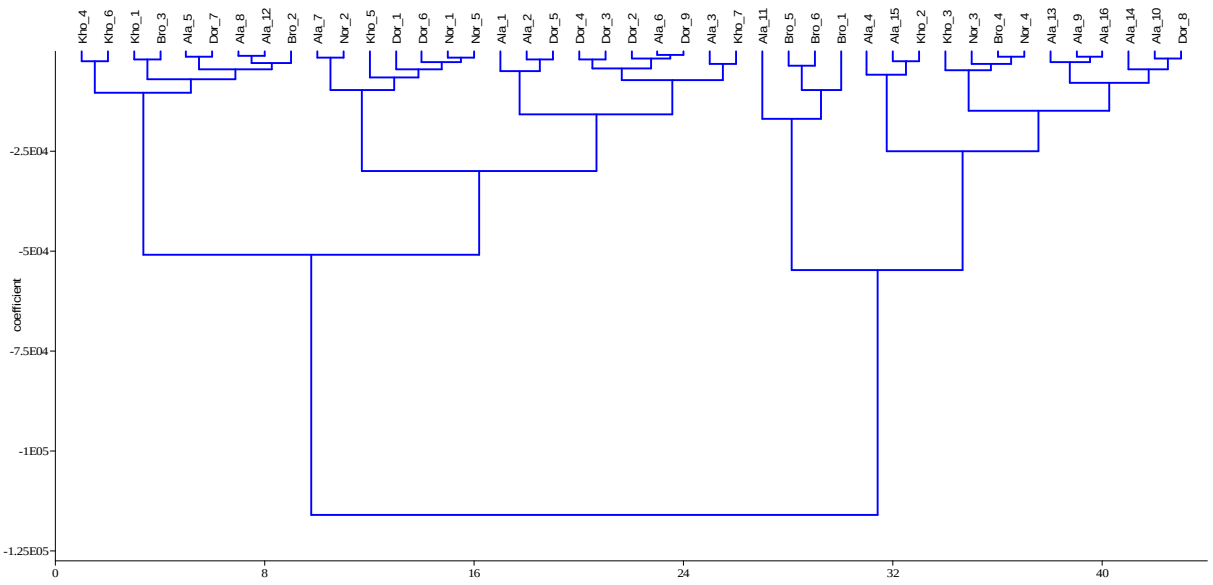
پروتئین بالا به عنوان ژنوتیپ های مطلوب برای این صفت تشخیص داده شدند. از نقطه نظر میزان چربی ژنوتیپ های دورود، بروجرد و الشتر دارای میزان چربی بالایی بودند و کمترین میزان چربی در ژنوتیپ های نورآباد مشاهده گردید.

با توجه به این که ژنوتیپ های مورد مطالعه از مناطق مختلف از نظر خصوصیات متفاوتی، برتر از سایر ژنوتیپ ها هستند، بنابراین در برنامه های اصلاحی، گزینش ژنوتیپ های برتر از مناطق مختلف، برای صفات مورد نظر و در صورت امکان تجمیع آنها در ژنوتیپ های اصلاح شده، می تواند ژنوتیپ هایی را با کارآیی بالا، از نقطه نظر صفات باغی و اقتصادی فراهم آورد.

بر اساس نتایج حاصل از رسم دندروگرام مربوط به ژنوتیپهای انتخابی در این مطالعه، ژنوتیپها از نظر مورفولوژیک در 5 گروه قرار گرفتند (شکل 1):

گروه اول شامل ژنوتیپ های الشتر(3 ژنوتیپ)، خرم آباد (3 ژنوتیپ)، بروجرد (2 ژنوتیپ) و دورود (1 ژنوتیپ) بودند. گروه دوم شامل ژنوتیپ های نورآباد(3ژنوتیپ)، دورود (2 ژنوتیپ)، خرم آباد (1 ژنوتیپ)، الشتر (1ژنوتیپ) بودند. گروه سوم ژنوتیپ های دورود (5 ژنوتیپ)، الشتر (4 ژنوتیپ) و خرم آباد (1 ژنوتیپ) را شامل می شود. گروه چهارم در برگیرنده 1 ژنوتیپ از الشتر و 3 ژنوتیپ از بروجرد است. گروه پنجم دربرگیرنده 7 ژنوتیپ از الشتر، 2 ژنوتیپ از نورآباد، 2 ژنوتیپ از خرم آباد، 1 ژنوتیپ از دورود و یک ژنوتیپ از بروجرد می باشد.

شکل 1) دندروگرام گروه بندی 43 ژنوتیپ گردو براساس داده های مورفولوژیک کمی با استفاده از روش وارد (Ala: الشتر، Bro: بروجرد، Dro: دورود، Kho: خرم آباد، Nor: نورآباد).



نتیجه گیری

نتایج حاصل از این بررسی، نشان می دهد که گردوهای بومی استان لرستان دارای تنوع بالایی از نظر صفات مورفولوژیک هستند و انتخاب در بین ژنوتیپها بایستی بر اساس صفات انتخابی صورت بگیرد.

منابع

1- احتشام نیا، ع.، م. شریفانی و وحدتی. کوروش. 1390. استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک کمی و کیفی در بررسی تنوع ژنتیکی توده های گردوهای بومی استان گلستان. هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران. 2159-2156.

2- رضوی، ف. 1377. شناسایی ژنوتیپ های بومی به در برخی از نقاط استان اصفهان (شهرستان اصفهان، فلاورجان و نطنز). پایان نامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

3- Aradhya, KM., Potter, F.G. and Simon, c.j. 2006. Cladistics biogeography of Juglans (Juglandaceae) based on chloroplast DNA intergenic spacer sequences. P. 143-170. In: Motley, T.J., Zerega, N. and Cross, H. (eds). Darwins harvest –New approaches to the origin, evalution, and conservation of crops. Columbia University Press, New York.

4- Beede, R.H. 1985. Origin of walnut. pp. 3-7. In: Ramos, E. (ed.) Walnut production manual. University of California, Publication 3373, USA.

5- Leslie, C. and McGranahan, G. 1998. The origin of the walnut. In: Ramos. D.E. (ed.) walnut orchard management. Publication 3373, Division of Agriculture and Natural Resources. University of California. Davis. 3-7.

6- Malvolti, M.E., Paciucci, M., Cannata, F., and Finechi, S. 1993. Genetic Variation in Italian populations of Juglans regia L. Acta Hort. 311: 86-94.

7- Newbury, H. J., and Ford-Lioyd. B. V. 1993. The use of RAPD for assessing variation in plants. Plant Growth Relation 12: 43-51.

8- Ramos, D.E. 1997. Walnut industry in the world: Prospects for research and production. Acta Horticulture, 442: 419-423.

Evaluation genetic variation of some populations of native walnut in Lorestan province using morphological markers

A. Mehboodi1*, B. Zahedi 2 and A. Ehteshamnia3

1- M.A Student of Plant Production, Lorestan University, Lorestan-Iran

2- Assistant Professor of Plant Production department, University of Lorestan, Lorestan-Iran

3- Plant Production department, University of Lorestan, Lorestan-Iran

*Aref mehboodi

Abstract

Walnuts are one of the most important horticultural crops and Iran is one of the most important centers of genetic diversity. The Increase of the quantity and quality of this product for economical saving and achieving global markets are one of the important goals of walnat trees breeding. Long history of seed walnut planting has caused tremendous diversity in trees and The Heterozygosity level of its genome has increased because of cross pollination, pollination by wind and Dicogamy. So, Early detection of the germplasm of this plant appears to be essential. In this paper to study on the genetic diversity of populations of Lorestan Province native walnut, 43 Persian walnut genotypes of the populations of Alashtar , Dorud, Khorramabad, Boroojerd and Nurabad were measured by assessing 35 quantitative and 49 qualitative traits. Grouping Persian walnut genotypes were done based on studied traits cluster analysis. Analysis of one way variance of data showed a significant difference among genotypes of different areas for all traits studied except for the trait of hard skin kernel percentage. Mean comparison using Duncan test showed that Broojerd and Aleshtar populations genotype had the most kernel weight 4/98 and 3/75 gerams respectively. Dorud and Alashtar populations had the highest amount of protein (20/26%) and fat (64/10%). According to the quantitative morphologic study, the studied genotypes were classified into 5 clusters.

Keywords: walnut (Juglans regia L.), morphological markers, cluster analysis