مطالعه روابط ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های خربزه ایران و افغانستان با استفاده از نشانگرهای مولکولیRAPD

سمیه باقریان [1*]، حمید رضا کریمی [2]، مجید اسماعیلی زاده [2]

1- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه ولی‌عصر (عج)، رفسنجان. 2- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه ولی‌عصر (عج)، رفسنجان.

*نویسنده مسئول: سمیه باقریان، bagherian.s2040@yahoo.com

چکیده

در این پژوهش تعداد 19 ژنوتیپ خربزه از دو کشور ایران و افغانستان جمع‌آوری گردید، سپس با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD مورد ارزیابی قرار گرفتند. 14 آغازگر 10 نوکلئوتیدی در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت و 135 باند چند شکل به‌دست آمد. میانگین درصد چند شکلی به‌دست آمده 96/36 درصد بود. تجزیه کلاستر براساس ماتریس تشابه و به روش UPGMA به‌دست آمد. دندروگرام حاصله در حد تشابه 0/48 ژنوتیپ‌ها را در 4 گروه اصلی قرار داد. در این پژوهش ژنوتیپ‌های خربزه گروه اینودوروس و کانتالوپنسیس از یکدیگر تفکیک نشدند. بیش‌ترین تشابه و فاصله ژنتیکی به‌ترتیب بین ژنوتیپ‌های IF1 و IF2 از ایران (استان فارس) و ژنوتیپ AM5 از افغانستان و رقم آناناسی (IK2) به‌دست آمد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ژنوتیپ‌های خربزه از کشور ایران و افغانستان به‌طور کامل از هم جدا نشدند، بنابراین نمی‌توان ژنوتیپ‌های خربزه را به‌طور کامل براساس منشأ از هم تفکیک کرد.

واژگان کلیدی: تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای، خربزه، ژنوتیپ، RAPD

مقدمه

خربزه- طالبی (Cucumis melo L.) یکی از محصولات مهم باغی و متعلق به تیره‌ی کدوئیان است (Pech et al., 2007). کشت خربزه- طالبی از زمان‌های بسیار قدیم در مناطق جنوب شرقی آسیا، آسیای مرکزی، آسیای صغیر و به‌ویژه ایران و افغانستان رواج داشته و کشاورزان ایرانی بهترین و مرغوب‌ترین نوع آن را پرورش می‌دهند. برخی از پژوهش‌گران منبع اولیه خربزه و طالبی را نواحی جنوبی و شرق آسیا و هم‌چنین نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری آفریقا ذکر کرده‌اند و معتقدند که این گیاهان از این مناطق به سایر نقاط دنیا برده شده و مورد کشت و پرورش قرار گرفته‌اند (Kerje and Grum, 2000). ولی سوابق تاریخی و تنوع ارقام خربزه- طالبی در ایران موجب شده که برخی از دانشمندان خاستگاه آن را در ایران جستجو کنند و مبدأ خربزه و طالبی را در محدوده جغرافیایی فلات ایران ذکر نمایند (Robinson and Decker-Walters, 1999). پژوهش‌های بسیاری در ارتباط با روابط ژنتیکی در توده‌های ملون در ایران و سراسر دنیا انجام پذیرفته است. صالحی نجف‌آبادی و همکاران (1389) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی RAPD تنوع ژنتیکی برخی از ژرم‌پلاسم خربزه- طالبی جمع‌آوری شده از استان‌های خراسان رضوی، کرمان، سمنان و همدان را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاصل از پژوهش ایشان نشان داد که نشانگر مولکولی RAPD برای بررسی اولیه تنوع ژنتیکی توده‌های بومی خربزه مناسب است. سلطانی و همکاران (2010) طی پژوهشی ویژگی‌های برخی از ملون‌های ایرانی را با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و هم‌چنین نشانگر مولکولی RAPD بررسی کردند. نتایج حاصل از این بررسی تشابه ژنتیکی را بین نمونه‌های ملون ایرانی و نمونه‌های مرجع گروه اینودوروس و کانتالوپنسیس نشان داد. در سال‌های اخیر عواملی از قبیل گسترش شهرها، ورود ارقام اصلاح شده و توسعه کشت آن‌ها، فرسایش ژنتیکی توده‌های بومی را در پی داشته است. با توجه به اهمیّت توده‌های بومی، به نظر می‌رسد که بررسی این توده‌ها جهت شناسایی و

حفاظت از آن‌ها ضروری باشد. تا کنون گزارشی بر روی ژنوتیپ‌های افغانستان صورت نپذیرفته و با توجه به این نکته که اساس پژوهش‌های به‌نژادی بر تنوع ژنتیکی استوار است، این پژوهش به منظور ارزیابی تنوع در بین توده‌های منتخب انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: 19 ژنوتیپ خربزه در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت، که شامل هفت ژنوتیپ متعلق به کشور افغانستان، هفت ژنوتیپ متعلق به استان فارس و چهار ژنوتیپ متعلق به استان خراسان از ارقام تجاری با نام‌های تیل سبز (IK1)، تیل مگسی (IK3)، مشهدی (IK4) و خاتونی (IK5) بود، هم‌چنین در این بررسی رقم آناناسی که از ارقام خارجی می‌باشد، در کنار سایر ژنوتیپ‌ها با کد IK2 مورد ارزیابی قرار گرفت.

انجام آزمایشات RAPD: استخراج DNA ژنومی از بافت برگ‌های جوان برداشت شده به روش CTAB در قالب دویل و دویل (1987) با کمی تغییرات استخراج گردید (Kafkas and Prel-Treves, 2001). کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به‌روش الکتروفورز تعیین شد. مواد و اجزاء واکنش پی سی آر تهیه گردید و در دستگاه ترمال سایکلر (مدل Bio-Rad, C1000tm Thermal Cycler) طبق برنامه داده شده به آن، جهت انجام واکنش پی سی آر منتقل شدند. محصول پی سی آر بر روی ژل 1/5 درصد آگارز لود شد. پس از الکتروفورز رنگ آمیزی با استفاده از محلول یک درصد اتیدیوم بروماید انجام و سپس توسط دستگاه ژل داک عکس‌برداری شد. پس از انجام آزمایشات RAPD، ماتریس تشابه ژنوتیپ‌ها با استفاده از ضریب تشابه جاکارد (Jaccard Cofficient) محاسبه گردید. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار NTSYS صورت پذیرفت و دندروگرام براساس ماتریس تشابه و به روش UPGMA به‌دست آمد.

نتایج و بحث

ماتریس تشابه براساس ضریب تشابه جاکارد به‌دست آمد. به‌طورکلی، بیش‌ترین تشابهات ژنتیکی بین دو ژنوتیپ IF2 و IF1 (هر دو ژنوتیپ از استان فارس) به‌میزان 75 درصد به‌دست آمد به‌عبارتی این دو ژنوتیپ از نظر نشانگرهای مورد بررسی در این پژوهش، الگوی مشابه‌تری با هم داشتند. کم‌ترین میزان تشابه ژنتیکی بین IK2 (آناناسی) و AM5 (از کشور افغانستان) به‌میزان 28 درصد و ژنوتیپ‌های تیل سبز (IK1) از استان خراسان و AM5 از کشور افغانستان به‌میزان 31 درصد مشاهده شد، که نشان دهنده‌ی سطح بالای چند شکلی بین ژنوتیپ‌های خربزه مورد بررسی می‌باشد. تفاوت زیاد در تشابهات ژنتیکی نشان می‌دهد که نشانگر RAPD برای ارزیابی تنوع در گونه C. melo نشانگر توانمندی است (فیضیان و همکاران، 1386).

دندروگرام براساس ماتریس تشابه و به روش UPGMA به‌دست آمد. در فاصله تشابه 0/48 ژنوتیپ‌های خربزه به 4 گروه به شرح ذیل تقسیم شدند:

گروه اول: بیش‌تر ژنوتیپ‌های خربزه از کشور افغانستان و چند ژنوتیپ از استان خراسان در این گروه قرار گرفتند که این ژنوتیپ‌ها شامل AM1، AM2، AM4، AM3، IK3 (تیل مگسی)، IK4 (مشهدی)، IK5 (خاتونی) و AM6 می‌باشند. در فاصله تشابه 0/50 این گروه به سه زیرگروه تقسیم شدند. زیرگروه اول شامل 4 ژنوتیپ AM1، AM2، AM4 و AM3 از افغانستان بود. در زیرگروه دوم 3 ژنوتیپ از استان خراسان شامل ژنوتیپ‌های IK3 (تیل مگسی)، IK4 (مشهدی) و IK5 (خاتونی) قرار گرفتند. در پژوهش مشابهی توسط صالحی نجف‌آبادی و همکاران (1389) نیز، ژنوتیپ‌های خربزه مشهدی و خاتونی با هم گروه‌بندی شدند. ژنوتیپ AM6 از افغانستان در زیرگروه سوم قرار گرفت. ژنوتیپ‌های واقع در این گروه از گروه اینودوروس بوده و فقط ژنوتیپ IK3 از کانتالوپ‌ها می‌باشد. بنابراین در این گروه ژنوتیپ‌های گروه کانتالوپنسیس و اینودوروس از هم تفکیک نشدند.

گروه دوم: شامل تمام ژنوتیپ‌ها از استان فارس می‌باشد، که البته یک ژنوتیپ از افغانستان (AM7) و ژنوتیپ IK1 (تیل سبز) از خراسان در این گروه قرار گرفتند. در فاصله 0/55 این گروه به 2 زیرگروه تقسیم شد. در زیرگروه اول ژنوتیپ‌های IF5، IF6 و IF7 از فارس به‌همراه ژنوتیپ IK1 (تیل سبز) قرار گرفتند، که رابطه ژنتیکی نزدیکی با ژنوتیپ AM7 از کشور افغانستان داشتند. ژنوتیپ‌های IF1، IF2، IF3 و IF4 در زیرگروه دوم قرار گرفتند.گروه سوم: این گروه را رقم آناناسی (IK2) که یک رقم خارجی می‌باشد، تشکیل داد. گروه چهارم: ژنوتیپ AM5 از افغانستان در گروه چهارم قرار گرفت.

براساس دندروگرام حاصل از داده‌های مولکولی، گرچه بیش‌تر ژنوتیپ‌های خربزه مورد مطالعه از دو کشور ایران و افغانستان از هم تفکیک شدند و در گروه‌های مجزایی قرار گرفتند، اما در برخی موارد به‌طور کامل از هم تفکیک نشدند و در برخی موارد چند ژنوتیپ از استان خراسان با ژنوتیپ‌های خربزه از کشور افغانستان در یک گروه قرار گرفتند. تفکیک نشدن کامل ژنوتیپ‌ها براساس منشأ جغرافیایی در پژوهش حاضر مطابق با نتایج حاصل از کار لوپز- سز و همکاران (2003) بر روی ملون اسپانیا و لوان و همکاران (2008) با استفاده از نشانگر RAPD بر روی توده‌های ملون از چین می‌باشد. به‌طورکلی ژنوتیپ‌های گروه اینودوروس از گروه کانتالوپنسیس تفکیک نشدند. این نتایج نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های گروه اینودوروس و کانتالوپنسیس از لحاظ ژنتیکی بسیار به هم نزدیک هستند که در گروه‌بندی با استفاده از داده‌های مولکولی از هم تفکیک نشدند. تفاوت در این دو گروه بیش‌تر در صفات مرتبط با میوه است. صفات مورفولوژی میوه خربزه توسط تعداد کمی ژن کنترل می‌شود (Pitrat et al., 1994). بررسی‌های فیضیان و همکاران (1386) نشان داد که ژنوم واریته‌های گیاه‌شناسی گونه ملون (C. melo) علی‌رغم تفاوت زیاد در شکل ظاهری بسیار به هم نزدیک است. بنابراین، نزدیکی این گروه‌ها به یکدیگر دلیلی بر شباهت بالای ژنوم این نمونه‌ها می‌باشد.

منابع

فیضیان، ا.، جلالی‌جواران، م.، دهقانی، ح.، و زامیاد، ح. 1386. بررسی تنوع ژنتیکی برخی از توده‌های بومی خربزه‌ئیان در ایران با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی رپید. مجله‌ی علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، جلد 11 (شماره‌ی 41)، 162-151.

صالحی نجف‌آبادی، س.، جلالی جواران، م.، و دهقانی، ح. 1389. استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی بخشی از ژرم‌پلاسم خربزه ایرانی. مجله‌ی زیست‌شناسی ایران، جلد 23 (شماره‌ی 3)، 352-343.

Kafkas, S. and Perl-Treves, R. 2001. Morphological and molecular phylogeny of Pistacia species in Turkey. Theoretical and Applied Genetics, 102: 908-915.

Kerje, T. and Grum, M. 2000. The origin of melon, Cucumis melo: a review of the literature. Acta Horticulturae, 510: 37-44.

Lopez-Sese, A. I., Staub, J. E. and Gomez-Guillamon, M. L. 2003. Genetic analysis of Spanish melon (Cucumis melo L.) germplasm using a standardized molecular-marker array and geographically diverse reference accessions. Theoretical and Applied Genetics, 108: 41-52.

Luan, F., Delannay, I. and Staub, J. E. 2008. Chinese melon (Cucumis melo L.) diversity analyses provide strategies for germplasm curation, genetic improvement, and evidentiary support of domestication patterns. Euphytica, 164: 445-461.

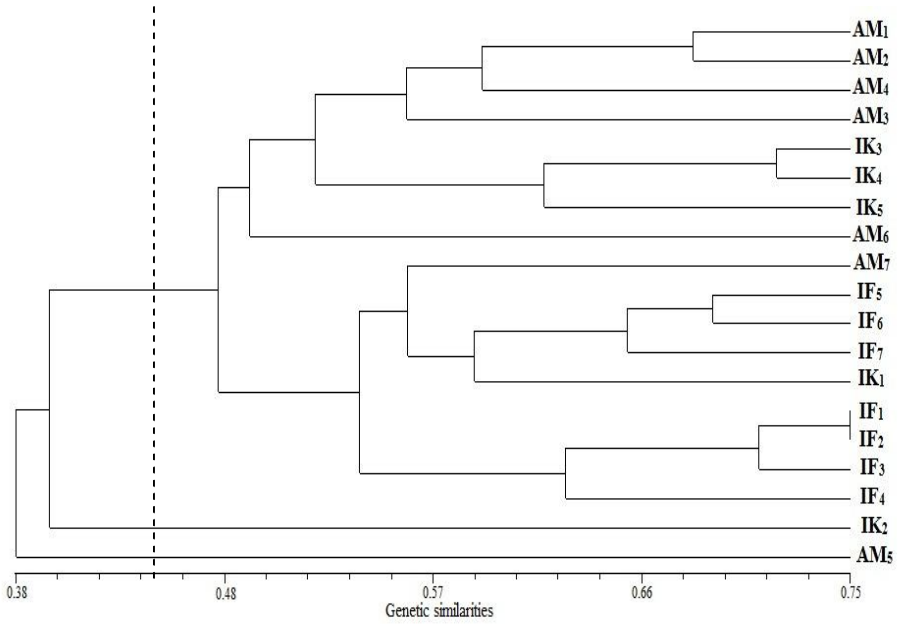
Pech, J. C., Bernadac, A., Bouzayen, M., Latche, A., Dogimont, C. and Pitrat, M. 2007. Biotechnology in agriculture and forestry. Transgenic Crops, 60: 209-240.

Robinson, R. W. and Decker-Walters, D. S. 1997. Cucurbits. Crop Production Science In Horticulture, Centre for Agricultural Bioscience International, New York.

Soltani, F., Akashi, Y., Kashi, A., Zamani, Z., Mostofi, Y. and Kato, K. 2010. Characterization of Iranian melon landraces of Cucumis melo L. groups flexuosus and dudaim by analysis of morphological characters and random amplified polymorphic DNA. Breeding Science, 60: 34-45.

Szamosi, C., Solmaz, I., Sari, N. and Barsony, C. 2010. Morphological evaluation and comparison of Hungarian and Turkish melon (Cucumis melo L.) germplasm. Scientia Horticulturae, 124: 170-182.

Pitrat, M. 1994. Linkage groups in Cucumis melo L. Cucurbit Genetics Cooperative Report, 17: 148–149.



شکل- دندروگرام حاصل از تجزیه داده‌های مولکولی مربوط به 19 ژنوتیپ مورد مطالعه خربزه

ژنوتیپ‌های AM1، AM2، AM3، AM4، AM5، AM6 و AM7 از کشور افغانستان، ژنوتیپ‌های IF1، IF2، IF3، IF4، IF5، IF6 و IF7 از استان فارس و ژنوتیپ‌های IK1 (تیل سبز)، IK3 (تیل مگسی)، IK4 (مشهدی) و IK5 (خاتونی) از استان خراسان و رقم آناناسی (IK2).

Genetic relationships among some of Iranian and Afghan melon (Cucumis melo L.) genotypes using RAPD molecular marker

S. Bagheriyan1*, H R. Karimi and M. Esmaeilizadeh2

1-Dept. of Horticultural Sciences, Vali-E-Asr University, Rafsanjan- Iran. 2- Dept. of Horticultural Sciences, Vali-E-Asr University, Rafsanjan- Iran.

Corresponding author*

Abstract

In this study nineteen melon accessions collected from Iran and Afghanistan countries. Then the genetic diversity among them was measured using molecular markers (RAPD). Fourteen primer 10 decamer produced 135 polymorphic bands. The percentage of polymorphism was determined 96,36 percent. Dendrogram at

distance of 0,48 similarities, the genotypes were located into 4 main groups. In present study different botanical Inodorus and Cantalupensis groups could not separated. There are respectively high similarity and a wide genetic distance between IF1 and IF2 genotypes from Iran (Fars province) and between AM5 from Afghanistan and Ananas melon (IK2). These genotypes have high diversity which could be used in breeding programs. Also results of this study showed that could not distinct studied melon genotypes based on origin, and were not completely separated accessions of Iran from genotypes of Afghanistan.
Keywords: Genetic diversity, Cluster analysis, Melon, Genotype, RAPD