بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف فندق در مناطق اشکورات گیلان و فندق‌لوی اردبیل با استفاده از نشانگر ریزماهواره

باقر کریمی (۱)، علیرضا بابائی (۲)، یوسف حمیداوغلی (۳)، علیرضا ترنگ (٤)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم کشاورزی و ۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس ۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان ٤- رییس پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال کشور

اولین قدم در هر برنامه بهنژادی، داشتن تنوع ژنتیکی بالا برای نیل به اهداف مهم اصلاحی است. با توجه به اهمیت اقتصادی فندق و قابلیت فرآوری بالای آن و همچنین نامشخص بودن ژنوتیپ‌های موجود در منطقه گیلان و فندق‌لوی اردبیل، تهیه شناسنامه کامل از فندق‌های موجود در این دو منطقه کاملا ضروری است. در این مطالعه با استفاده از ۱۵ جفت نشانگرهای ریزماهواره تنوع و روابط ژنتیکی ۷۰ ژنوتیپ فندق گزینش شده از مناطق فندق‌خیز گیلان (اشکورات)، فندق‌لوی اردبیل، تالش و طارم مورد ارزیابی قرار گرفت. در مجموع ۵۳ آلل اصلی با میانگین ۳/۵ در هر مکان ژنی مشخص گردید. بیشترین آلل مشاهده شده مربوط به مکان ژنی CAC- B029b با ۷ آلل بود. میانگین تعداد آلل‌های مؤثر و هتروزیگوتی به ترتیب ۲/۳٤ و ۰/٤٦ محاسبه شد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکل ۰/٤۸ محاسبه شد که حداکثر آن برای مکان مارکری CAC-B029b به میزان ۰/۷۷ بود. دندروگرام داده‌های مولکولی براساس روش UPGMA رسم شد و ژنوتیپ‌ها در ۷ گروه اصلی گروه بندی شدند. با این مطالعه اولین پایگاه اطلاعاتی برای تعدادی از ژنوتیپ‌های فندق ژرم‌پلاسم از دو منطقه فندق‌لوی اردبیل و اشکورات گیلان به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: ژنوتیپ های فندق، نشانگرهای ریزماهواره، هتروزیگوتی

مقدمه

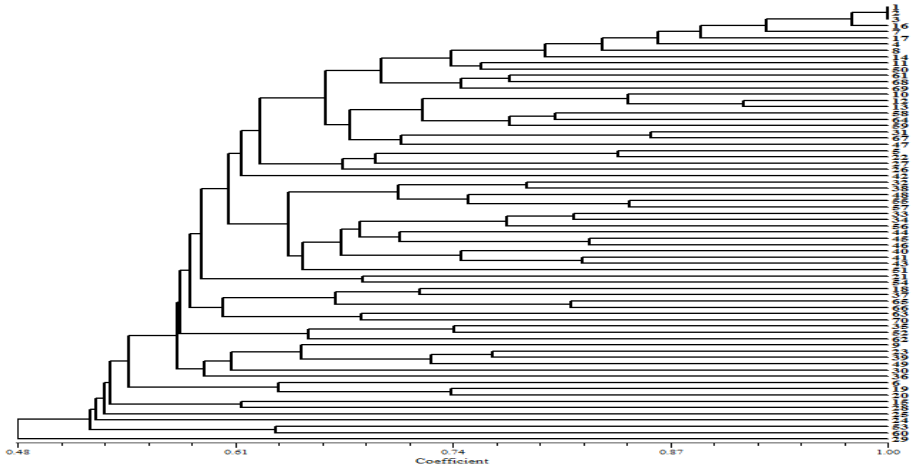
فندق یکی از محصولات عمده خشکباری دنیا می‌باشد کشور ایران با سطح زیر کشت ۱۹۵۰۰ هکتار، میزان تولید ۱۸۰۰۰ تن و متوسط عملکرد ۹۲۳ کیلوگرم در هکتار پنجمین کشور تولید کننده در جهان می‌باشد طبق آمار سال۱۳۸۷ بخش تحقیقات باغبانی کشور، سطح زیر کشت فندق بیش از ۱۸/۰۰۰ هکتار است که استان گیلان با توجه به اینکه در بین استانهای فندق‌خیز کشور چه از لحاظ سابقهٔ تاریخی و چه از نظر میزان تولید مقام اول را به خود اختصاص داده است، بیش از ۸۰٪ سطح زیر کشت فندق کشور به این استان بویژه شهرستان رودسر منطقهٔ اشکورات تعلق دارد. بطوریکه ۷۲۰۰ هکتار از باغات استان زیر کشت این محصول است و سالانه ٦٦٤۸ تن فندق تولید می‌کند که این رقم معادل۷۰٪ فندق مصرفی کشور است. اولین قدم در هر برنامه اصلاحی، داشتن تنوع ژنتیکی بالا برای نیل به اهداف مهم است معمولا از نشانگرهای مورفولوژیکی برای شناخت این گیاهان استفاده می‌شود. این نشانگرها به سبب داشتن چندشکلی پایین و متاثر بودن از شرایط محیطی، قادر به تفکیک ژرم پلاسم‌های نزدیک به هم نمی‌باشند(Ahmad *et al*; 1987). علیرغم تلاش ارزشمند صورت گرفته در سال ۱۳۷۳ در جهت اجرای طرح بررسی، شناسایی و جمع آوری فندق در سطح کشور دو تیپ فندق گرد معمولی و شصتک از منطقه اشکور گیلان گزارش گردید (قربانی، ۱۳۷۳). در این راستا مطالعه‌ای که روی ۷۸ رقم فندق اروپایی با استفاده از ١٦ نشانگر صورت گرفت، میانگین محتوای اطلاعات چندشکل به میزان ۰/۷۸ گزارش گردید (Boccacci *et al*; 2006).

مواد و روش‌ها

پس از جمع‌آوری نمونه‌های برگی، استخراج DNA از بافت برگ به روش دویل و دویل (۱۹۸۷) با اندکی تغییر انجام گرفت. پس از استخراج DNA و قبل از انجام هر عملی، جهت بررسی حضور اسیدهای نوکلئیک و مقدار آن، غلظت DNA به دست آمده با اسپکتروفتومتر (نانو دراپ ۱۰۰۰ ND) در طول موج ۲٦۰ نانومتر اندازه گیری شد. سپس عکس برداری باندها با دستگاه ژل داک انجام شد (BioDoc Analyze). برای انجام الکتروفورز، از دستگاه الکتروفورز عمودی Bio RAD Sequi Gen استفاده شد. مواد مورد نیاز برای انجام واکنش PCR با حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر برای هر نمونه و رتبه‌دهی به صورت کد ۱ (وجود آلل) و کد ۰ (فقدان وجود آلل) انجام شد

نتایج و بحث

در این مطالعه محتوای اطلاعات چند شکل به میزان ٠/٤٨ برآورد شد. این نشان می‌دهد که بین ژنوتیپ‌های مختلف تنوع ژنتیکی خوبی وجود دارد. در مجموع ۵۳ الل اصلی با میانگین ۳/۵۳ در هر مکان مارکری با استفاده از ۱۵ نشانگر ریزماهواره مشخص گردید. میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده (H0) ٠/٤٦ بود که حداقل آن برای مکانهای مارکری CAC- B010 و CaT-B502 به مقدار٠/٠٧ و حداکثر آن برای مکان مارکری CAC-B011 با میزان ٠/٦٨ بود. .به منظور تعیین قرابت ژنوتیپ‌های مورد بررسی و گروه‌بندی آنها بر اساس نتایج مولکولی، تجزیه کلاستر بر اساس روش UPGMA و با استفاده از ضریب تشابه جاکارد صورت گرفت و دندروگرام رسم گردید دندروگرام در ضریب تشابه ٠/٥٦ برش داده شد و ژنوتیپ-ها در ۷ گروه اصلی گروه‌بندی شدند (شکل ۱).



شکل ۱: دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ارزیابی های نشانگر ریزماهواره در ۷۰ نمونه فندق ایرانی

گروه اول بزرگترین گروه و شامل ٦٠ ژنوتیپ است که در ضریب تشابه ٠/٥٦ برش داده شده است. ۱۵ نمونه اشکورات گیلان در گروه اول قرار گرفته‌اند. این مطلب نشان می‌دهد که فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های اشکورات گیلان بسیار کم بوده و با توجه به این موضوع که درختان فندق موجود در منطقه اشکورات توسط کشاورزان پراکنش یافته‌اند می‌توان گفت که درختان فندق به صورت تکثیر غیر جنسی ازدیاد یافته‌اند. ولی ژنوتیپ‌های منطقه اردبیل با فواصل ژنتیکی زیاد از هم قرار گرفته‌اند و با توجه به وحشی بودن درختان فندق در منطقه اردبیل می‌توان اظهار کرد که تکثیر غیرجنسی نداشته و نمونه‌ها به وسیله بذر ازدیاد گشته‌اند.

منابع

قربانی، ۱. ۱۳۷۳ . گزارش طرح بررسی ، شناسایی و جمع آوری فندق در سطح کشور. بخش تحقیقات باغبانی موسسه اصلاح و تهیه بذر و نهال کرج.

Ahmad, Z., Daley, L.S., Meneez, M. A . and laerstedt, H.B. 1987 .Characterization of filbert (*Corylus*) Species and cultivar using gradient polyacrilamid gel electrophoresis . J . Environ . Hort . 5 : 11 – 16 .

Doyle, J.J and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, Phytochemical bulletin, 19: 11-15.

Bassil, N.V., Botta, R. and Mehlenbacher, S.A. 2005 . Microsatellite markers in hazelnut : Isolation , characterization , and cross - species amplification . Hort . Sci . 130 (4) : 543 – 549 .

Boccacci, P., Akkak, A. and Botta, R. 2006. DNA typing and genetic relations among European hazelnut (Corylus avellana L.) cultivars using microsatellite markers, Genome, 49: 598-611.

A Study on Genetic Variation of Different Hazelnut (*Corylus avelana*) Genotypes in Guilan (Eshkevarat) and Ardabil (Fandoghloo) Provinces Iran Using Microsattelite Markers

Abstract

The first step in any breeding program, having high genetic diversity is important to achieve goals. Considering the economic importance of hazelnut and its high processing capability as well as being uncertain genotype found in the region of Guilan and Ardabil Levy hazelnuts, supplying the full profile of hazelnuts available in this two areas is absolutely essential. In this work, 70 hazelnu genotypes collected from 2 rich region of Guilan (Eshkevarat) and Ardabil (Fandoghloo) were studied using 15 pairs of microsatellite markers in order to identify the genotypes and investigate their genetic relation region. In total, 53 polymorphic alleles were detected at the 15 SSR loci with average 3.5 in each locus. The most alleles were observed in CAC-B029b with 7alleles. The effective alleles averaged of 2.34 and mean of heterozygosity was 0.46. Mean polymorphic information content was calculated 0.48. the highest PIC were related to CAC-B029bwith 0.77. A similarity dendrogram was generated by UPGMA cluster analysis placed in to 7 main groups in this study, the first database for a number of genotypes of hazelnut Germ Plasm of the two areas Guilan (Eshkevarat) and Ardabil (Fandoghloo) was provided.

Keywords: Hazelnutgenotypes, Microsatellitemarkers, Heterozygosity