

## تجزیه ملکولی برخی ارقام زینتی مرکبات با استفاده از نشانگرهای RAPD و ISSR

مرضیه کشاورز اسکندری (۱)، بهروز گلین (۲)، شهرام صداقت حور (۱)، جواد فتحی مقدم (۲)

۱- دانشگاه آزاد رشت ۲- موسسه تحقیقات مرکبات کشور

استفاده از نشانگرهای ملکولی در بررسی‌های ژنتیکی و دریافت قرابت و دوری ژنوتیپ‌ها در مرکبات ابزاری مهم تلقی می‌شوند. در این پژوهش به ارزیابی مولکولی چهار گونه زینتی مرکبات شامل کامکوات، نارنج خوشه‌ای، نارنج ابلق و یک مورفوتیپ طبیعی زینتی خونی برای تعیین الگوی بانندی ژنوتیپ‌های حاوی ترکیبات فنولی بالا و شناسایی نشانگرهای مفید جهت کاربرد در برنامه‌های بهنژادی پرداخته شده است. بعد از استخراج DNA از نمونه‌های مذکور و چهار رقم دیگر مرکبات شامل انشو و نارنج (دارای حداکثر مواد فنولی) و رافلمون و پرتقال خونی تاراکو (دارای حداقل مواد فنولی) به عنوان شاهد، واکنش PCR با ۲۰ آغازگر RAPD و ۶ آغازگر ISSR انجام و نمونه‌ها روی ژل آگارز ران شدند. پس از عکسبرداری از ژل و امتیازبندی باندها، داده‌ها با استفاده از نرم افزار NTSys و Popgene مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نارنج ابلق و نارنج دارای الگوی بانندی مشابه‌ای بوده و در یک گروه قرار گرفتند. همچنین باندهای مشابه‌ای در ارقام دارای ترکیبات فنولی بالا وجود داشته که در ارقام با سطح پایین ترکیبات فنولی وجود ندارد و می‌توان از این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی مرکبات بهره گرفت.

کلمات کلیدی: فنول، مرکبات زینتی، RAPD، ISSR

مقدمه:

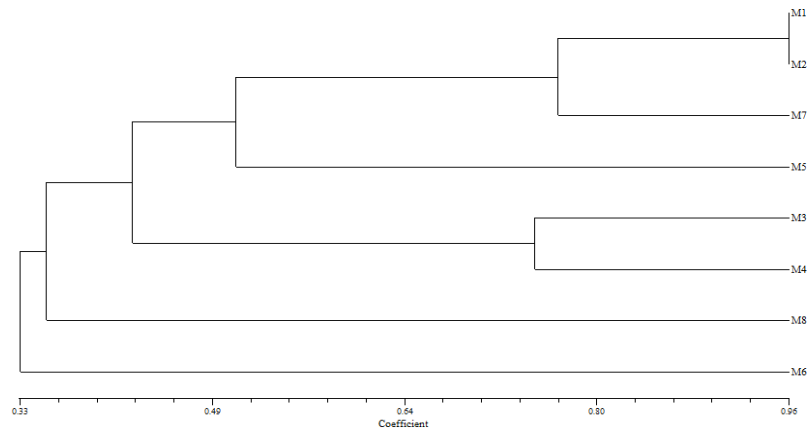
گسترش وسیع جغرافیایی و میزان بالای تولید مرکبات موجب شده است که این محصول از اهمیت اقتصادی زیادی در جهان برخوردار باشد و میوه‌های آنها دارای میزان زیادی از ترکیبات چون آنتوسیانین‌ها، کارتنوئیدها، ویتامین‌ها، فنل‌ها، فلاونوئیدها و گلوکاتون و ... هستند که قادرند رادیکال‌های آزاد اکسیژن با خاصیت تخریب‌کنندگی مواد حیاتی را خنثی نمایند از این رو اعتقاد بر خاصیت ضد سرطانی آنها نیز وجود دارد. همچنین ترکیبات غیر مغذی مانند فیبر و پکتین را نیز دارا می‌باشند که می‌توانند خطر بسیاری از بیماری‌های مزمن مثل حملات قلبی را کاهش دهند و از سوی دیگر موجب افزایش تحمل درون گیاه نسبت به خسارت ناشی از تنش‌ها می‌شود. استفاده از نشانگرهای ملکولی در بررسی‌های ژنتیکی و دریافت قرابت و دوری ژنوتیپ‌ها در مرکبات ابزاری مهم تلقی می‌شود. با توجه به تنوع زیاد در ارقام مرکبات و تأکید بر جنبه خوراکی ارقام آن، گونه‌های زینتی و پتانسیل‌های موجود در آنها کمتر مورد توجه قرار گرفته است در این پژوهش به ارزیابی مولکولی چهار گونه زینتی مرکبات شامل کامکوات، نارنج خوشه‌ای، نارنج ابلق و یک مورفوتیپ طبیعی زینتی خونی برای تعیین الگوی بانندی ژنوتیپ‌های حاوی ترکیبات فنولی بالا و شناسایی نشانگرهای مفید جهت کاربرد در برنامه‌های بهنژادی پرداخته شده است که پس از استخراج DNA از نمونه‌های مذکور و چهار رقم دیگر مرکبات شامل انشو و نارنج (دارای حداکثر مواد فنولی) و رافلمون و پرتقال خونی تاراکو (دارای حداقل مواد فنولی) به عنوان شاهد، واکنش PCR با ۲۰ آغازگر RAPD و ۶ آغازگر ISSR انجام و نمونه‌ها روی ژل آگارز بارگذاری شده و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

مواد و روش تحقیق:

از چهار نمونه مرکبات زینتی به همراه چهار رقم شاهد هر کدام ده برگ سالم جهت استخراج DNA به روش موری و تامسون (۱۹۸۰) انتخاب کرده، با کمک PCR به تجزیه RAPD با استفاده از ۲۰ آغازگر پرداخته و محصولات روی ژل آگارز ۱٪ بارگذاری شده و سپس تهیه عکس از ژلها و امتیاز بندی آنها صورت گرفت. با طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و ۳ تکرار به کمک نرم افزار آماری MSTATC تجزیه و تحلیل شده و جهت گروه‌بندی تیپ‌های مورد آزمایش و تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی پاپ ژن و NTSys استفاده گردید.

هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، ۱۴ تا ۱۷ شهریور ماه ۱۳۹۰، دانشگاه صنعتی اصفهان

(( M1: نارنج ابلق ، M2: نارنج، M3: ابلق خونی کترا، M4: تاراکو، M5: انشو، M6: کامکوات ، M7: نارنج خوشه ای، M8: راف لمون))



**نتیجه :**

نارنج ابلق و نارنج دارای الگوی باندهای مشابهی بوده و در یک گروه قرار گرفتند. تاراکو دارای الگوی باندهای مشابه با ابلق خونی کترا بوده همچنین باندهای مشابهی در ارقام دارای ترکیبات فنولی بالا وجود داشته که در ارقام با سطح پایین ترکیبات فنولی وجود ندارد.

**بحث:**

Marino و همکاران (۱۹۹۷) با نشانگر RAPD و خصوصیات مرفولوژیکی به بررسی تنوع ژنتیکی درون پایه‌های *C. limonia* پرداختند و توانستند کلون‌هایی شناسایی کنند که هرکدام در عملکرد، تحمل و مقاومت به بعضی بیماری‌ها با هم اختلاف داشتند.

Yang و همکاران (۲۰۰۵) به بررسی اثر فلاونوئید مرکبات در متابولیسم چربی و تبدیل گلوکز خون در دیابتی‌های نوع دوم پرداخته و اعلام نمودند که هیسپریدین و نارینجین که از مهمترین فلاونوئیدها می‌باشند در افزایش میزان m-RNA مربوط به گلوکوکیناز نقش بسزایی داشته و با بالا رفتن این آنزیم کاهش میزان گلوکز خون در بیماران دیابتی نوع دوم رخ میدهد، همچنین با فعال سازی آنزیم کلاسترول اسیل ترانسفراز (ACAT) کاهش کلاسترول خون رخ میدهد.

Wang و همکاران (۲۰۰۶) با اندازه گیری پلی فنول، فلاونوئید و کارتنوئید کل در چند رقم مرکبات از جمله کامکوات دریافتند که کامکوات جزء ارقامی بوده که بیشترین پلی فنول را دارا بوده است و از طرفی فلاونوئید پایینی داشته است و در (۲۰۰۷) فلاونوئید و پکتین در چند رقم مرکبات از جمله کامکوات را آزمون کردند و گزارش کردند که کامکوات بالاترین مقدار نوعی فلاونوئید بنام Diosmin همچنین غنی ترین گونه دارای بتا- کاروتن و بتا- کریپتو زانتین و زئاگزانتین می‌باشد. در حالیکه بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق کامکوات در بین ارقام بررسی شده کمترین میزان پلی فنول را داشته است که میتواند ناشی از تفاوت در ارقام مورد مقایسه و مکان باشد. در خصوص سایر ارقام زینتی نیز در این خصوص تحقیقی در دسترس نبوده که طی این تحقیق الگوهای باندهای آنها با ارقام شاهد مورد مقایسه قرار گرفته و قرابت نارنج ابلق با نارنج همچنین قرابت خونی کترا با تاراکو بدست آمده است.

**منابع:**

-فتحی قزوینی، رضا و جواد فتاحی مقدم. ۱۳۸۵، پرورش مرکبات در ایران، انتشارات دانشگاه گیلان. ۳۰۵ صفحه  
- گل‌عین، ب. (۱۳۸۴). شناسایی و جداسازی ریزوما‌هواره‌های مرکبات به منظور تشخیص هیبریدها و ارزیابی پرتقال و نارنگی ایرانی. رساله دکتری باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

-Marino, C.R. , L.Catalina, A.S. Benedita, and A.M. Marcos. 1997. Genetic variation within germplasm of citrus rootstock (*Citrus limonia* Osb.) Plant & Animal Genome, V Conference. p68.  
-Tripoli, E., L. M. Guardia, M. Giammanco, D. Dimajoand and M. Giammanco. 2007. Citrus flavonoides, molecular structure biological activity and nutritional. Food Chemistry. 104:466-479.  
-Wang, Y.C., Y.C. Chuang and Y.H. Ku. 2007. Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. Food Chemistry. 102:1163-1171.