

بررسی تنوع ژنتیکی گونه های رز (*Rosa spp.*) موجود در ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

لیلا سمیعی (۱)، روح انگیز نادری (۲)، احمد خلیقی (۳)، علی اکبر شاه نجات بوشهری (۴)، ولی الله مضمیریان (۵)،

شاهرخ کاظم پور اوسالو (۶)، ماریوس جی ام اسمولدرز (۷)

۱-استادیار گروه گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد ۲-دانشیار و ۳-استاد گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران ۴-دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران ۵-استاد گروه گیاهشناسی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع تهران ۶-دانشیار گروه زیست شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس ۷-استاد مرکز بین المللی تحقیقات گیاهی، دانشگاه واگنینگن

نه گونه رز وحشی شامل *R. damascena*, *R. persica*, *R. iberica*, *R. canina*, *R. foetida*, *R. hemisphaerica*, *R. beggeriana* و *R. pimpinellifolia* از مناطق مختلف ایران جهت انجام یک برنامه اصلاحی جمع آوری شدند. تعداد ده نشانگر ریزماهوره برای بررسی تنوع ژنتیکی این گونه ها مورد استفاده قرار گرفت. با وجود اینکه گونه ها متعلق به بخش های مختلف گیاهشناسی بودند، نشانگرهای ریزماهوره توانستند آلل ها را در تمام گونه ها تکثیر کنند. تجزیه خوشه ای به روش *UPGMA* و بر اساس ضریب تشابه دایس ژنوتیپ ها را به پنج گروه اصلی تقسیم کرد و در هر گروه گونه هایی با پلوئیدی مشابه قرار گرفتند. بخش *Caninae* بزرگترین و پیچیده ترین گروه را تشکیل داد و تمایزی بین ژنوتیپ های گونه های *R. canina* و *R. iberica* در این بخش مشاهده نشد. همچنین ژنوتیپ های این دو گونه در درون یک استان، نسبت به ژنوتیپ های گونه مشابهشان در استان های دیگر، رابطه ژنتیکی نزدیکتری داشتند. گونه های متعلق به بخش *Pimpinellifoliae* دو گروه جداگانه در دندروگرام تشکیل دادند که در یک گروه گونه *R. pimpinellifolia* به همراه گونه *R. damascena* قرار گرفت و در گروه دیگر گونه *R. hemisphaerica* و گونه *R. foetida* قرار گرفتند. *R. persica* بیشترین فاصله ژنتیکی و کمترین تعداد آلل مشترک با دیگر گونه ها را نشان داد. در مجموع در این مطالعه نشانگرهای ریزماهوره به عنوان یک ابزار قدرتمند جهت تفکیک جنس *Rosa* در سطح بخش و گونه شناخته شدند و دندروگرام حاصل در این تحقیق، با تقسیم بندی سنتی گیاهشناسی و باغبانی رزها مطابقت نشان داد.

کلمات کلیدی: گونه های رز وحشی، نشانگر ریزماهوره، تنوع ژنتیکی

مقدمه

رزها در مناطق معتدله و نیمه گرمسیری در نیمکره شمالی پراکنده می باشند. طبقه بندی جنس رز در ابتدا بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی بوده است اما بدلیل عوامل متعددی نظیر عدم وجود تفاوت های مشخص مورفولوژیکی بین خیلی از گونه ها، توانایی طبیعی رزها در دورگ گیری و همچنین انجام دوررگ گیری های بین گونه ای در سطح وسیع توسط بشر، درک روابط بین گونه ها در جنس *Rosa* مشکل بوده است. این موضوع بخصوص در گونه های متعلق به بخش *Caninae*، بدلیل دارا بودن نوع ویژه میوز و همچنین توانایی این گیاهان در تلاقی بین بخش ها و زیر بخش ها بسیار پیچیده تر می باشد. نشانگرهای ریزماهوره ابزار مناسبی جهت مطالعه روابط و تنوع گیاهان در برنامه های بهنژادی می باشند. این نشانگرها مبتنی بر *PCR* بوده، از نظر ژنتیکی شناخته شده اند و توارث همباز دارند. بدلیل اینکه این نشانگرها در میان گونه هایی که از نظر ژنتیکی به یکدیگر نزدیک هستند، قابلیت انتقال دارند، می توانند جهت استقرار روابط بین گونه ها مفید باشند. هدف از این مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه های رز موجود در ایران و همچنین روابط بین این گونه ها با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره بود.

مواد و روش ها:

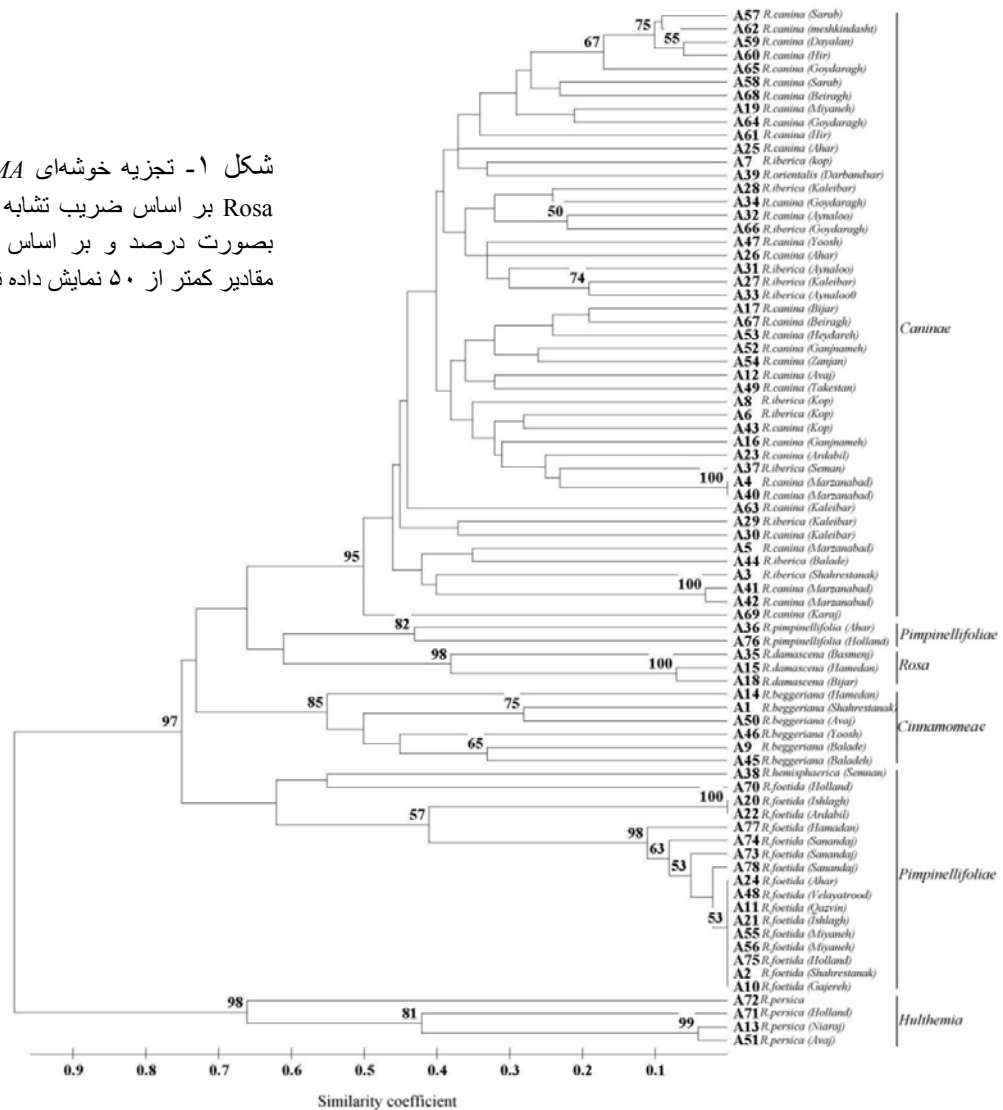
در این تحقیق از ۷۸ ژنوتیپ از جنس رز که متعلق به گونه های *R. canina*, *R. iberica*, *R. orientalis*, *R. damascena*, *R. hemisphaerica*, *R. foetida*, *R. beggeriana* و *R. persica* بوده و از ۹ استان مختلف کشور جمع آوری شده بودند، استفاده گردید. *DNA* بوسیله کیت کیاژن و از مقدار ۲۰ میلی گرم برگ خشک برای هر گیاه استخراج شد. تعداد ۱۰ نشانگر ریز ماهوره (*RhP518*, *RhAB40*, *RhO517*, *RhEO506*،

RhD221, RhAB73, RhD201, RhB303, RhE2b, RhE50) که از گونه *R. hybrida* توسط اسلینک و همکاران (۲۰۰۳) استخراج شده بود و متعلق به گروه‌های پیوستگی متفاوتی در نقشه ژنتیکی رز بود، انتخاب شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیز مطابق با برنامه ارائه شده توسط اسلینک و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. الگوی بانندی هر مکان ریزماهوره به صورت صفر و یک نمره دهی شد و به عنوان فنوتیپ آلی در نظر گرفته شد. به منظور ارزیابی قدرت تفکیک کنندگی مکان‌های ریزماهوره، تعداد فنوتیپ‌های آلی در هر مکان ریزماهوره برای تمام ژنوتیپ‌های هر گونه محاسبه شد. ژنوتیپ‌ها بر اساس تجزیه خوشه‌ای به روش *UPGMA* توسط نرم افزار *NTSYS 2.1* گروه بندی شدند.

نتایج و بحث:

تمام ده نشانگر ریزماهوره مورد آزمون، چند شکل بودند و مجموعاً ۱۸۵ آلل با متوسط ۱۸/۵ آلل در هر مکان ژنی تولید کردند. با در نظر گرفتن همه ژنوتیپ‌ها، بیشترین تعداد آلل (۴۳) در مکان ژنی *Rhp50* و کمترین تعداد آلل (۹) در مکان ژنی *Rhp518* تولید شد. همچنین نشانگرهای ریزماهوره قادر به تکثیر در تمام گونه‌ها بودند. با اینکه گونه‌های رز مورد مطالعه به بخش‌های متفاوتی تعلق داشتند، ولی نشانگرها قابلیت انتقال خوبی بین گونه‌ها نشان دادند. دندروگرام *UPGMA* پنج گروه از ژنوتیپ‌ها را شناسایی کرد که هر کدام دارای گیاهانی با پلئیدی مشابه بودند (شکل ۱) در گروه *Caninae*، ژنوتیپ‌های گونه‌های *R. canina* و *R. iberica* از یکدیگر قابل تمایز نبودند. این شباهت ژنتیکی ممکن است ناشی از دورگیری طبیعی بین این دو گونه باشد هر چند از نظر مورفولوژیکی نیز تفاوت‌های اندکی بین این دو گونه مشاهده شد. ژنوتیپ‌های گونه‌های *R. canina* و *R. iberica* در درون یک استان، نسبت به ژنوتیپ‌های گونه مشابهشان در استان‌های دیگر، رابطه ژنتیکی نزدیکتری داشتند. بخش *Pimpinellifoliae* دو شاخه جداگانه در دندروگرام تشکیل داد. این نتیجه با نتایج ماتسوموتو و همکاران (۲۰۰۱) که از توالی *matK* جهت تفکیک ژنوتیپ‌های متعلق به بخش *Pimpinellifoliae* استفاده کردند، مطابقت نشان داد. تمام ژنوتیپ‌های کم‌پر *R. foetida*، الگوی ریزماهوره مشابهی داشتند که دلالت بر وجود یک ژنوتیپ غالب *R. foetida* در ایران دارد. بنظر می‌رسد که این گیاهان از یک جد مشترک منشأ گرفته و در مناطق مختلف جغرافیایی ایران پراکنده شده‌اند و برای قرن‌ها به صورت رویشی تکثیر یافته‌اند. باروری بسیار پایین گونه *R. foetida* نیز می‌تواند مؤید این امر باشد. گونه *R. pimpinellifolia* به همراه گونه *R. damascena* در یک گروه قرار گرفت. هر دو گونه تتراپلوئید بوده و ۹ آلل مشترک در ۱۰ مکان ژنی نشان داشتند. تمام ژنوتیپ‌های *R. damascena* نیز در یک گروه قرار گرفتند. اگرچه فقط سه ژنوتیپ از این گونه در تحقیق حاضر وجود داشت ولی هتروزیگوسیتی بالایی درون این گونه مشاهده شد (۰/۷۶). بر اساس نتایج، گونه *R. persica* در یک موقعیت کاملاً جدا از دیگر گونه‌ها در دندروگرام قرار گرفت. این گونه همچنین بیشترین تعداد آلل خنثی را نسبت به دیگر گونه‌ها داشت. این مطالعه این نظریه را که *R. persica* جزء اولین گونه‌های مشتق شده از جنس *Rosa* می‌باشد تأیید می‌کند. در مجموع در این مطالعه نشانگرهای ریزماهوره در سطح بخش و گونه در جنس *Rosa* بسیار قدرتمند عمل کردند و دندروگرام حاصل در این تحقیق، با تقسیم بندی سنتی گیاهشناسی همخوانی نشان داد.

شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای *UPGMA* ژنوتیپ‌های جنس *Rosa* بر اساس ضریب تشابه دایس. مقادیر *Bootstrap* بصورت درصد و بر اساس ۱۰۰۰ تکرار می‌باشد (مقادیر کمتر از ۵۰ نمایش داده نشده است).



منابع:

Esselink, G.D., Smulders, M.J.M. and Vosman, B. (2003). Identification of cut-rose (*Rosa hybrida*) and rootstock varieties using robust Sequence Tagged Microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 106:277-286.

Matsumoto, S., Nishio, H., Fukui, H. and Ueda, Y. (2001). Phylogenetic analysis of genus *Rosa*: polyphyly of section *Pimpinellifoliae* and origin of *Rosa* × *fortuniana* lindl. *Acta Horticulturae*, 547:357-363.

Koopman, W.J.M. (2005). Phylogenetic signal in AFLP data sets. *Systematic Biology*, 54:197-217.

Evaluation of the genetic diversity of rose species (Rosa spp.) of Iran using microsatellite markers

Abstract

Wild rose species includeing R. canina, R. iberica, R. orientalis, R. damascena, R. pimpinellifolia, R. hemisphaerica, R. foetida, R. beggeriana and R. persica were collected from different regions in Iran for a rose breeding program. Ten microsatellite markers were used to analyze the genetic variation of these species. The markers amplified alleles in all species in the genus, even if they were from different sections. Unweighted pair group method cluster analysis (UPGMA) based on Dice similarity coefficients revealed five main groups. The species in the same clusters had similar ploidy level. Caninae was the largest and the most complicated cluster. The data showed no support for a distinction between R. canina and R. iberica from section Caninae, as the accessions were placed in one group, and accessions of these two species were more closely related to each other within a province than to accessions of the same species in other provinces. Section Pimpinellifolia ended up with two separate clusters of which, one contained R. pimpinellifolia species combined with R. damascena and the other included R. foetida and R. hemisphaerica species. R. persica clustered genetically very distinct from all others, with very few alleles shared with other taxa. SSR markers were highly informative and robust at the section level as well as at the species level in the genus Rosa and the resulting dendrogram agreed well with the traditional botanical classification and horticultural literature.