بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی شنبلیله ایرانی بر اساس نشانگر مولکولی RAPD

پژمان مرادی (۱)، عبدالکریم کاشی (۲)، محمدرضا حسندخت (۳)، محمود خسروشاهلی (۴)، احمد خلیقی (۵)

۱- عضو هیئت علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه،۲، ۳ و ۵- استاد، استادیار و استاد دانشکده علوم باغبانی و گیاهپزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۴- استاد گروه اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) گیاهی یکساله متعلق به تیره بقولات است که سابقه کاشت طولانی در ایران دارد. توده‌های متنوعی از این گیاه در کشور یافت می‌شود، ولی تا کنون تحقیق کاملی برای شناسایی و ارزیابی این توده‌ها صورت نگرفته است. به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی شنبلیله ایرانی، ۲۰ توده از نقاط مختلف کشور جمع‌آوری و از طریق صفات مولکولی مورد بررسی قرار گرفتند. توده‌های جمع‌آوری شده به کمک نشانگر مولکولی RAPD ارزیابی شدند. تجزیه خوشه‌ای بر این اساس صورت گرفت و ۲۰ توده شنبلیله ایرانی را به ۱۲ گروه تقسیم نمود. دندروگرام و گروه‌های بدست آمده نشان دادند که نشانگرهای بکار رفته در این تحقیق بخوبی توانسته است توده‌های شنبلیله را از یکدیگر تفکیک نمایند.

مقدمه

تکنیک RAPD به علت وراثت پذیری مناسب، داشتن چند شکلی بالا، سهولت ارزیابی و اندازه گیری، کم خطر بودن، پوشش سطح وسیعی از ژنوم گیاه و قابلیت تعمیم نتایج به مطالعات دیگر روش مناسبی به نظر می‌رسد. بر اساس مطالعات انجام گرفته تنها Rakhee و همکاران (۲۰۰۴) گزارشی از بررسی تنوع ژنتیکی ۱۷ ژنوتیپ شنبلیله ارائه کردند. آنها به منظور ارزیابی توده‌ها با نشانگر RAPD حدود ۱۰۰ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی تصادفی بکار بردند و باندهایی را در محدوده ۵۰۰pb تا ۲ kb مشاهده نمودند که در مجموع در ۲۲ آغازگر ۷۰٪ چند شکلی مشاهده شد. آنها اثرات جغرافیایی را به میزان بالایی منطبق به گروه بندی خود دانستند و از نتایج آنها مشخص شد توده جمع آوری شده از ایران با توده‌های هند و ترکیه تا ۸۲٪ مشابهت داشتند. نشانگر RAPD در بررسی تنوع ژنتیکی بسیاری از گیاهان این تیره در سطح جهان استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق بذر ۲۰ توده مختلف شنبلیله از نقاط مختلف کشور که بطور سنتی از گذشته در آن مناطق کشت می‌گردید، جمع آوری شد. این مناطق عبارتند از: قائنات، نیشابور، سمنان، شهرری، زنجان، خرم‌آباد، بروجرد، کرمانشاه، سی‌سخت، کاکان، کاشان، اردستان، یزد، کرمان، اصفهان، شوشتر، برازجان، شیراز، خاش و توده‌ای از استان خراسان که با نام عراقی شهرت داشت. استخراج DNA از بافت برگ به روش دویل و دویل (۱۹۹۰) صورت گرفت. تعداد ۶۰ آغازگر تصادفی در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. واکنش PCR با حجم ۲۵µl، شامل بافر واکنش PCR به صورت ۱X، ۱/۷۵ mM $MgCl_2$، ۰/۲ mM dNTPs، ۰/۲µM هر یک از آغازگرها، آنزیم *Tag* پلیمراز (Smart *Tag*) µl ۰/۰۴ و 5ng از DNA الگو بود. شرایط PCR با چرخه‌های دمایی بصورت یک چرخه ۱ دقیقه در دمای ۹۴°C برای واسرشت سازی DNA کروموزومی، تعداد ۳۵ چرخه به صورت °C(۳۴-۳۲-۳۰) که دما با توجه به نقطه ذوب آغازگر