بررسی تنوع ژنتیکی پایه های تجاری و بومی سیب ایران با استفاده از تکنیک SSR

لطفعلی ناصری (۱) و (۲)، رضا درویش زاده (۳) و (۲) و مهدی روستایی (۱) و (۲)

۱- گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ۲- پژوهشکده علوم زیستی دانشگاه ارومیه، ۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

چکیده

در این تحقیق برخی از پایه های سیب از مناطق سیب خیز ایران از جمله آذربایجان و تعدادی از ارقام بین‌المللی و پایه‌های معروف جهانی با ۴۰ آغازگر SSR مورد ارزیابی قرار گرفتند. استخراج DNA از مواد گیاهی به روش تغییر یافته دلاپورتا صورت گرفت. از ۴۰ جفت پرایمر SSR مورد مطالعه ۱۵ جفت پرایمر پلی مورفیسم خوبی نشان دادند. تکثیر حاصله باعث ایجاد باندهایی در محدوده اندازه های بین ۱۰۰ تا ۳۵۰۰ جفت باز شد. نتایج تکثیر به صورت ماتریس (۱ و ۰) که به ترتیب حضور باند (۱) و عدم حضور باند (۰) امتیاز بندی شدند. ماتریس تشابه بر اساس ضریب تشابه Nei با استفاده از نرم افزار Phyltools محاسبه و تجزیه خوشه ای به روش Neighbor-Joining با استفاده از نرم افزار تخصصی Phylip انجام گرفت. تجزیه خوشه ای و رسم دارنگاره ۳ گروه عمده را نشان داد. در این تحقیق با توجه به باندهای چندشکل کارایی نشانگر SSR جهت گروه بندی پایه های سیب تأیید شد.

واژه های کلیدی: ارقام بومی، سیب، نشانگر ریز ماهواره، تنوع ژنتیکی، PCR

مقدمه:

بسیاری از خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی حاوی ژن‌های مقاومت به آفات و بیماری‌ها و تحمل به تنش‌های محیطی مانند خشکی، سرما و شوری می‌باشند که می‌توان از این منابع ژنتیکی جهت اصلاح واریته‌های زراعی استفاده کرد. پیش‌نیاز اقدام به اصلاح گیاهان، شناخت ساختار مجموعه‌های ژرم‌پلاسم می‌باشد. آگاهی از ساختار ژرم‌پلاسم امکان نمونه‌برداری از ژرم‌پلاسم، برای اهداف حفاظتی و اصلاحی را فراهم می‌کند(Padulosi et al., 1998).

مواد و روش ها:

ابتدا نمونه های برگی مربوط به ۱۲ رقم پایه سیب از باغ کلکسیون سیب مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه و کلکسیون گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی ارومیه جمع‌آوری و در داخل نیتروژن مایع نگهداری شدند و سپس با استفاده از پروتکل دلاپورتا، استخراج DNA از آنها صورت گرفت. توسط پرایمرهای مختلف مربوط به SSR های شناخته شده سیب PCR گردیدند. شرایط PCR عبارت بود از: ۴ دقیقه ۹۴ درجه، ۱دقیقه۹۴ درجه، ۱ دقیقه ۵۱ تا ۵۶ درجه، ۱ دقیقه ۷۲درجه، ۳۵ سیکل و ۵ دقیقه ۷۲ درجه برای تکثیر نهایی. سپس محصول PCR بر روی ژل آگارز ۳٪ الکتروفورز شد. نتایج تکثیر صورت ماتریس (۱ و ۰) که به ترتیب حضور باند (۱) و عدم حضور باند (۰) امتیاز بندی شدند. ماتریس تشابه بر اساس ضریب تشابه Nei (۱۹۷۲) با استفاده از نرم افزار Phyltools محاسبه و تجزیه خوشه ای به روش Neighbor-Joining با استفاده از نرم افزار تخصصی Phylip انجام گرفت. ارقام مورد بررسی عبارت بودند از: خان آلماسی، آزایش اصفهان، نوردرن اسپای، MM104، MM109، MM106، M7، M4، M2، M26، M9، گمی آلماسی،

نتایج و بحث:

اکثر ژنوتیپ های مطالعه شده در دو گروه اول و دوم قرار گرفتند. گروه اول شامل ارقام گمی آلماسی ,M2, M26 M7,و نوردرن اسپای MM104. بودند. در گروه دوم ژنوتیپ های MM106 و M4, M9, MM109 قرار گرفتند. در گروه دوم پایه های ,آزایش اصفهان قرار گرفتند. ارقام قرار گرفته در هر گروه ارقام دارای تشابه بالایی بودند. در این تحقیق با توجه به باندهای چندشکل کارایی نشانگر SSR جهت گروه بندی ارقام تأیید شد.

منابع :

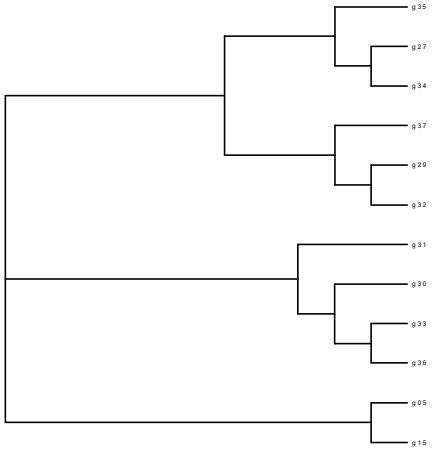
ناصری، ل. جلیلی مرندی، ر. قدیم‌زاده، م. مطالعه خصوصیات گیاه شناسی، فیزیولوژیکی و فنولوژیکی پایه سیب گمی آلماسی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی دانشگاه ارومیه، ۱۳۸۵

Goulao Luıs, Luıs Cabrita, Cristina M. Oliveira, & Jose M. Leitao 2001.Comparing RAPD and AFLP™ analysis in discrimination and estimation of genetic similarities among apple (Malus domestica Borkh.) cultivars. *Euphytica* 119: 259–270,

Kenis K. and J. Keulemans (2005). Genetic linkage maps of two apple cultivars (*Malus · domestica* Borkh.) based on AFLP and microsatellite markers. *Molecular Breeding* 15: 205–219.

Liebhard R. B., Koller L., Gianfranceschi C. Gessler (2003). Creating a saturated reference map for the apple (*Malus domestica* Borkh.) genome. *Theor Appl Genet* 106:1497–1508.

Silfverberg-Dilworth E. C. L. Matasci .W. E. Van de Weg . M. P. W. Van Kaauwen .M.Walser . L. P. Kodde . V. Soglio . L. Gianfranceschi .C. E. Durel . F. Costa . T. Yamamoto . B. Koller .C. Gessler . A. Patocchi (2006). Microsatellite markers spanning the apple (*Malus x domestica* Borkh.) genome. *Tree Genetics & Genomes* 2: 202–224.



شکل 1- دندروگرام حاصل های داده براساس سیب رقم پایه 12 نشانگر SSR

Genetice Diversity of Commercial and Iranian Native Rootstocks of Apple by SSR Technique

Lotfali Naseri[1, 2], Reza Darvishzadeh[2, 3], Mahdi Rustaei[1, 2]
1-Horticulture Department of Urmia Universit 2-BioScience and Biotechnology Research Institute of Urmia University 3- Agronomy and Plant Breeding Department of Urmia University

Abstract:
Genetic diversity was evaluated among some Iranian native and commercial apples rootstocks by SSR technique. DNA was extracted by Dellaporta protocol. Among 40 primers tested, 15 primers showed high polymorphism. Size of bands was between 100-3500 bps. SSR bands were scored from the gel as presence (1) or absence (0). The genetic similarities were calculated from the SSR data using the Nei similarity index in Phyltools software. Cluster analysis was performed using Neighbor-Joining algorithm using Phylip software. The genetic relatedness analysis produced 3 meaningful clusters in accordance with morphological and geographic origins of the accessions. The greatest genetic difference was between M26 and Azayesh.

Keywords: Apple landraces, simple sequence repeat marker (SSR), genetic diversity