

## ارزیابی مولکولی و تعیین والدین ژنوتیپ های والدین و نتاج برتر حاصل از تلاقی بین انگورهای دانه دار و بیدانه با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره

مهدی حدادی نژاد (۱)، علی عبادی (۲) و محمد رضا نفوی (۳)

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران، ۲- دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران، ۳- دانشیار گروه اصلاح نباتات دانشگاه تهران

انگور از مهم ترین محصولات باغبانی جهان و ایران است. به منظور اصلاح انگور برای مصارف تازه خوری و کشمش، ارقام عسکری، یاقوتی، بیدانه سفید و بیدانه قرمز به عنوان والدهای پدری و ارقام موسکات هامبورگ، قزل اوزوم، دیزماری، رجبی سفید، علی بابا، الحقی قرمز و تبرزه به عنوان والدهای مادری انتخاب و دو رگ گیری بین آنها در سال ۱۳۷۵ انجام شد. نتاج حاصل از ۲۶ تلاقی مورد ارزیابی قرار گرفته و بمنظور تایید صحت تلاقی کنترل شده و نتیجه آن، ۱۲ نتاج برتر و والدین پدری و مادری توسط ۱۴ نشانگر مولکولی ریزماهوره مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج دورگ بودن نتاج مورد بررسی و تمایز ژنتیکی و فنوتیپی آنها از والدین و تفاوت ژنتیکی بین نتاج را تایید نمود. بیشترین تشابه یک والد مادری با نتاج به میزان ۰/۶۵ و بین رقم علی بابا و سه ژنوتیپ دسته S بدست آمد. نتایج نشان داد خودگرده افشانی در والدین مادری رخ نداده بود. نشانگر ریزماهوره همچنین توانست والدین و نتاج را از یکدیگر تفکیک نماید و تنها در تفکیک دو والد پدری بیدانه سفید و بیدانه قرمز کارآیی لازم را نداشت. بین نتاج روابط خواهر و برادر تنی به خوبی مشخص گردید. در نهایت با استفاده از روشهای انتساب مبتنی بر درست نمایی ضمن کاهش خطاها، آزمون شناسایی والدین نیز انجام شد. نتایج حاصل از بررسی چهار صفت کیفی در والدین و نتاج حاکی از بهبود صفات در نتاج برتر بود.

**واژه های کلیدی:** اصلاح، انگور تازه خوری، نتاج برتر، نشانگر ریز ماهوره، تعیین والدین

### مقدمه

منشأ انگورهای دنیای قدیم منطقه ای بین دریای سیاه و دریای خزر ذکر شده است (۶، ۹). اصلاح انگورهای تازه خوری به منظور دسترسی به ارقام بیدانه برتر که دارای صفات کمی و کیفی مطلوبی باشند اهمیت زیادی در بازار یابی آنها دارد (۱۱). برای دستیابی به ارقام بیدانه جدید با خصوصیات مورد نظر بازارهای جهانی، تحقیقی با ارزیابی ۹۰ رقم از ارقام مهم داخلی در سال ۱۳۷۵ در کلکسیون انگور ایستگاه تحقیقات گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران واقع در کرج آغاز شد (۵). سپس با تکیه به نتایج بدست آمده، ارقام دانه دار با حبه های درشت و گوشتی و همچنین نسبت پایین تعداد بذر به اندازه حبه، به عنوان والدهای مادری و ارقام بیدانه داخلی نیز به عنوان والدهای پدری انتخاب شدند (۱). دورگ گیری بین ارقام ذکر شده در سال ۱۳۷۸ صورت گرفت. عرفانی و همکاران (۱۳۸۷) نتاج حاصل از تلاقی های برنامه اصلاحی انگور گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران را بر اساس صفات مورد نظر در ارقام تازه خوری بیدانه انگور مورد ارزیابی قرار دادند و نتاج برتر حاصل از آنها نیز بصورت مقدماتی معرفی شدند.

هدف استفاده از نشانگر ریزماهوره برای بررسی دورگ بودن نتاج برتر، مشخص نمودن روابط و درجه قرابت بین نتاج و والدین آنها، تایید تفاوت ژنتیکی نتاج برتر از ژنوتیپ والدین و بررسی ثبات آن در سطح ژنوم نتاج بود. نتاج برتر از طریق بررسی چند صفت کیفی مهم در انگورهای تازه خوری با والدین مقایسه گردیدند.

### مواد و روش ها

۲۳ ژنوتیپ انگور شامل ۴ رقم پدری بیدانه (یاقوتی، عسگری، بیدانه قرمز و بیدانه سفید)، ۷ رقم مادری دانه دار (موسکات هامبورگ، قزل اوزوم، دیزماری، رجبی سفید، علی بابا، الحقی قرمز و تبرزه) و ۱۲ دانهدار برتر کاملاً بیدانه (با نام های I<sub>21</sub>, K<sub>67</sub>, R<sub>80</sub>, I<sub>73</sub>, A<sub>119</sub>, B<sub>98</sub>, R<sub>84</sub>, S<sub>40</sub>, K<sub>93</sub>, S<sub>55</sub>, L<sub>125</sub>, S<sub>54</sub>) از کلکسیون انگور (ارقام و نتاج) گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران تهیه شد و از آنها نمونه‌های برگ‌ی مناسب گرفته و سپس از این نمونه‌ها برای ذخیره سازی در ۸۰- درجه سانتی گراد و استخراج دی.ان.آ به روش توماس و همکاران (۱۹۹۴) استفاده شد. از ۱۴ نشانگر ریزوماهواره برای واکنش زنجیره ای پلی مرز استفاده گردید. و فرآورده های واکنش زنجیره پلیمرز بر روی ژل پلی اکریلامید ۶ درصد عمودی تفکیک شدند. محصولات تکثیر شده به روش رنگ آمیزی با نیترات نقره رنگ آمیزی و رویت گردیدند (۴) و امتیاز دهی باندها بصورت صفرو یک انجام شد و توسط برنامه CERVUS,3.0 و نرم افزار eNTSYSpc2.02 آنالیز گردیدند. اندازه گیری صفات مورفولوژیک: صفات کیفی مربوط به تراکم حبه، استحکام حبه و تست بیدانگی بر اساس تقسیم بندی دیسکرپتور موجود (IBPGRI) برای انگور اندازه گیری شد.

### نتایج و بحث

نتایج مورفولوژی: تراکم حبه در بین نتاج برتر متنوع بوده و از تراکم کم تا خیلی فشرده مشاهده گردید. استحکام حبه ها نیز نسبت به والدین بیدانه بهبود نشان داده و ریزش حبه در آنها متوسط تا مشکل بود. نتایج نشانگر ریزوماهواره: تکثیر قطعات دی.ان.آ در ۲۳ ژنوتیپ والدین و نتاج مورد مطالعه توسط ۱۴ جفت آغازگر ریزوماهواره انجام گردید. آل های ریز ماوهواره ای مشخص شده بر روی ژل پلی آکریلامید ۶٪ و اسرشته ساز و رنگ آمیزی نیترات نقره در مکان ژنی VrZAG21. ستون اول مربوط به سایز مارکر است که وزن هر باند در جلوی آن مشخص شده است. و شماره ها مربوط به شماره والد و نتاج در جدول ۱ می باشد. تجزیه خوشه ای: بمنظور تعیین فاصله ژنتیکی و درجه قرابت بین نتاج و والدین گروه بندی ژنوتیپ ها با استفاده از روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه دایس انجام گردید نتایج حاصل از ماتریس تشابه (داده ها نشان داده نشده است) و رسم کلاستر نشان داد به جز در مورد ارقام پدری بیدانه سفید و بیدانه قرمز که تشابه ۰/۹۶ را نشان دادند، حداکثر تشابه مشاهده شده بین نتاج ۰/۸۶ و مربوط به ژنوتیپ های S<sub>55</sub> و S<sub>54</sub> می باشد که احتمالاً خواهر و برادر تنی می باشند و حداکثر تشابه بین یک والد پدری و یک نتاج ۰/۷۲ مربوط به یاقوتی و ژنوتیپ K<sub>67</sub> می باشد و حداکثر تشابه یک والد مادری با یک نتاج به میزان ۰/۶۵ مربوط به رقم علی بابا و سه ژنوتیپ دسته S می باشد. با توجه به نتایج فوق می توان نتیجه گیری کرد که در بین جمعیت والدین خود گرده افشانی رخ نداده و نتاج حاصل از تلاقی کنترل شده بدست آمده اند. فتاحی و همکاران (۱۳۸۱) فاصله کمتر از ۰/۳۰ (تشابه بالای ۰/۷۰) بر اساس کلاستر و گروه بندی حاصل از تست خوشه ای و برخورداری از فراوانی ژنوتیپی (۱:۲) برای یک مکان تک ژنی هم بارز را ملاک خود گشنی قرار داده اند.

### منابع

۱. عبادی، علی و همکاران. ۱۳۸۳. اصلاح انگور به منظور تولید ارقامی با کیفیت برتر، گزارش طرح ملی.
۲. عرفانی مقدم، ج.ع. عبادی، م. ر. فتاحی مقدم و م. حدادی نژاد. ۱۳۸۷. معرفی ژنوتیپ های بیدانه بدست آمده از تلاقی برخی ارقام بیدانه و دانه دار انگور. مجله علوم کشاورزی ایران. در دست انتشار.

۳. فتاحی مقدم، م. ر.، ذ. زمانی، ع. عبادی، ب. قره یاضی. ش.ا. ملنباکر، ۱۳۸۱، توارث آللهای مکان های ژنی ریزماهواره (میکروساتلایت) در جمعیت در جمعیت حاصل از تلاقی انگور رقم های بیدانه قرمز x موسکات هامبورگ، مجله علوم و فنون باغبانی ایران، جلد ۳، شماره های ۳ و ۴، صفحه ۵۰-۳۷.

4. Bassam B., J.G. Caetano-Anolles and P. M. Gresshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Anal. Biochem. 196: 80-83.
5. Fatahi, R., A. Ebadi., A. Vezvaei & Z. Zamani. 2004, Relationship among quantitative and qualitative characters in 90 grapevine (*Vitis vinifera*) cultivars, Acta Hort 640: 275-282.
6. Fatahi, R., A. Ebadi., N. Bassil., S.A. Mehlenbacher & Z. Zamani. 2003. Characterization of Iranian grape cultivars using microsatellite markers. Vitis 42: 185-192.
7. I.B.P.G.R. 1983. Descriptors for Grapes. Intern. Board Plant for Genetic Resources. Rome: 1-62.
8. Jones, A. & Ardren. W, 2003, Methods of parentage analysis in natural populations. Mol Eco. 12: 2511 – 2523.
9. Ledbetter, C. A. & D. W. Ramming. 1989. Seedlessness in grape. In: Janick, J. (Ed). Horticultural Reviews, vol 11: 159-184.
10. Meagher, TR. 1986. Analysis of paternity within a natural population of *Chamaelirium luteum*. I. Identification of most-likely male parents. American Naturalist, 128:199–215.
11. Spiegel-Roy, P., Y. Baron & N. Sahar. 1990. Inheritance of seedlessness in seeded X seedless progeny of *Vitis vinifera* L. Vitis 29: 79-83.
12. Thomas, MR., Cain. P, Scott. NS, 1994, DNA typing of grapevines: A universal methodology and database for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. Plant Mol Biol.25:939–949.

## Evaluation of molecular and morphological traits of parents and superior progenies genotypes from control cross between seeded and seedless grapevines with use of microsatellite and morphological markers

### Abstract

Grapevine is one of the most important horticultural crops in the world as well as in Iran. During recent centuries attempts have been done to improve grapes in the world. grape breeding to improve table and raisin traits has been started with crossing some selected Seedless (Askary, Yaghoti, Bidane Sefid and Bidane Ghermez as male parents) and Seeded (Muscat of Hamburg, Ghezel Uzum, Dizmary, Rajabi Sefid, Ali Baba, Alhaghi Ghermez and Tabarze as female parents) cultivars. Out of 1400 progeny obtained from 26 different crosses, 381 of them which produced fruits so far were evaluated during growing seasons of 2006 & 2007. Due to certification of trueness of control cross and their results at this study, 12 superior progenies with their male and female parents were evaluated with microsatellite molecular markers. Results showed superior progenies had been hybrid, have genetic and phenotypic differentiation from their parents and themselves. The highest similarity between a seed parent and its progenies was about 0.65 and belonged to Alibaba cultivar and three S progenies genotype. Results showed self-pollination hasn't occurred in female parent. SSR discriminate parents and progenies sufficiently. However couldn't show useful discrimination Bidane Sefid and Bidane Ghermez as male parents. The relationship among progenies well distinguished and only some of progenies parent were determined. Likelihood based assignment was used to reducing errors and parentage analysis finally. Parents and progenies were evaluated with 4 qualitative traits that showed progenies were improved than their parents.

**Key words:** breeding, table grape, superior progeny, microsatellite markers, parentage analysis