

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ های انار ایرانی با استفاده از نشانگر RAPD

عبدالکریم زارعی (۱)، ذبیح اله زمانی (۲) و محمدرضا فتاحی مقدم (۳)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی دانشگاه تهران، ۲- دانشیار دانشگاه تهران، ۳- استادیار دانشگاه تهران

چکیده

بنا بر توافق اکثر محققین انار بومی ایران بوده و اولین منطقه اهلی شدن و مورد کشت و کار قرار گرفتن این میوه، ایران است. ایران دارای گستره وسیعی از انواع به ظاهر متفاوت این میوه می باشد، همچنین جنگلهای وحشی از این درخت میوه در قسمت های مختلف ایران موجود است. در این تحقیق، ۲۹ ژنوتیپ انار مورد کشت و کار از استانهای مختلف ایران به علاوه یک نمونه وحشی برای بررسی تنوع ژنتیکی بین آنها با استفاده از نشانگر های ملکولی RAPD مورد استفاده قرار گرفتند. از تعداد ۶۷ آغازگر تصادفی RAPD مورد استفاده ۲۰ عدد تولید باندهای چند شکل و تکرار پذیر کردند. در مجموع از این آغازگرها ۳۰۹ باند حاصل شد که ۱۷۴ عدد از آنها در بین حداقل دو نمونه چند شکلی نشان دادند (درصد چند شکلی ۵۷/۶۴٪). ماتریس تشابه بین ۰/۱۵ تا ۰/۹۵ متغیر بود. بر اساس دندروگرام UPGMA حاصله، نمونه های مورد بررسی بر اساس منطقه جمع آوری شده در گروههای مختلفی قرار گرفتند. همچنین در این تحقیق نمونه وحشی مورد استفاده با فاصله قابل توجه از بقیه نمونه های مورد کشت و کار جدا شد و در یک شاخه مجزا به صورت تکی قرار گرفت. این تحقیق ضرورت توجه به نمونه های وحشی موجود در کشور برای حفظ ژرم پلاسما و استفاده از آنها در برنامه های اصلاحی آبی را آشکار می نماید.

مقدمه

ایران دارای گستره وسیعی از انواع به ظاهر متفاوت این میوه می باشد، همچنین جنگلهای وحشی از این درخت میوه در قسمت های مختلف ایران موجود است. امروزه استفاده از نشانگرهای ملکولی برای بررسی ژنوم گیاهان مختلف برای تسریع در مطالعات اصلاحی جایگاه ویژه ای پیدا کرده است. این مطلب به خصوص در مورد گیاهان چند ساله از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. نشانگر RAPD، یکی از تکنیکهای مبتنی بر PCR بوده که در مطالعات مختلف از جمله تنوع ژنتیکی و نقشه یابی ژنومی بسیار مورد استفاده قرار گرفته است. در تحقیق حاضر به منظور بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ارقام مورد کشت و کار قرار گرفته انار در ایران و مقایسه آنها با یک نمونه وحشی از نشانگر RAPD استفاده شد.

مواد و روش ها

در این تحقیق، ۲۹ ژنوتیپ انار مورد کشت و کار از استانهای مختلف ایران به علاوه یک نمونه وحشی برای بررسی تنوع ژنتیکی بین آنها با استفاده از نشانگر های ملکولی RAPD مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج DNA از نمونه های گیاهی پس از خرد کردن نمونه های برگگی در حضور ازت مایع با استفاده از روش وربی و همکاران (۱۹۹۶) و از برگهای تازه جمع شده از گیاهان انجام گرفت. برای انجام آزمایش RAPD از ۵۱ آغازگر سری اوپرون و ۱۶ آغازگر سری

TIBMOLIBIOL استفاده شد. برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز، از کیت مخصوص PCR (Amplicon, Denmark) که حاوی مواد مورد نیاز برای این واکنش می باشد در حجو واکنش نهایی ۱۵ μ l استفاده شد.

نتایج و بحث

از تعداد ۶۷ آغازگر تصادفی RAPD مورد استفاده ۲۰ عدد تولید باندهای چند شکل و تکرار پذیر کردند. در مجموع از این آغازگرها ۳۰۹ باند حاصل شد که ۱۷۴ عدد از آنها در بین حداقل دو نمونه چند شکلی نشان دادند (درصد چند شکلی ۵۷/۶۴٪). ماتریس تشابه بین ۰/۱۵ تا ۰/۹۵ متغیر بود. بر اساس دندروگرام UPGMA حاصله، نمونه های مورد بررسی بر اساس منطقه جمع آوری شده در گروههای مختلفی قرار گرفتند. همچنین در این تحقیق نمونه وحشی مورد استفاده با فاصله قابل توجه از بقیه نمونه های مورد کشت و کار جدا شد و در یک شاخه مجزا به صورت تکی قرار گرفت. این تحقیق ضرورت توجه به نمونه های وحشی موجود در کشور برای حفظ ژرم پلاسما و استفاده از آنها در برنامه های اصلاحی آتی را آشکار می نماید. همچنین نمونه های استفاده شده در این تحقیق تا حدودی بر اساس منشا جغرافیایی خود گروه بندی شدند.

منابع

- Sarkhosh, A., Z. Zamani, R. Fatahi, & A. Ebadi. 2006. RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Scientia Hort.* 111: 24–29.
- Vroh Bi, I., L. Hraventg, A. Chandelier, G. Mergiai, & Du P. Jardin. 1996. Improved RAPD amplification of recalcitrant plant DNA by use of activated charcoal during DNA extraction. *Plant Breeding* 115: 205–206.
- Ercisli, S., G. Agar, E. Orhan, N. Yildirim, & Y. Hizarci. 2007. Interspecific variability of RAPD and fatty acid composition of some pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) growing in Southern Anatolia Region in Turkey. *Biochem. Syst. Ecol.* 35: 764-769.

Analysis of genetic diversity among some of Iranian pomegranate genotypes by using RAPD molecular markers

Abdolkarim Zarei, Zabihollah Zamani and Mohammad Reza Fatahi Moghadam
Department of Hort. Sci, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj 31587, Iran.

Most researches believe that pomegranate (*Punica granatum*) is native of Iran and this country is the primary center of domestication and cultivation of this fruit tree. Iran contains numerous visually different pomegranate genotypes, also wild forests of this fruit tree exists in several geographical regions. In present study, 29 cultivated accessions and a wild form of pomegranate from various provinces were used for evaluation of their genetic diversity by RAPD molecular markers. Sixty-seven RAPD decamer primers were screened, out of which twenty amplified good, reproducible and polymorphic fragments among accessions. From totally 309 recorded fragments, 174 were polymorphic between accessions (57.64% polymorphism). The Jaccard's similarity coefficients ranged from 0.15 to 0.95. UPGMA dendrogram clustered the accessions in agreement with their geographical origins. Also in present study, the wild accession separated from other cultivated genotypes by considerable distance and laid individually in a branch. This study revealed that wild genotypes are

worthful for considering in germplasm preservation and their use in breeding programs of pomegranate.