ژنتیک نوین
دوره چهارم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۸
صفحه۳۶-۲۷

ارزیابی ملکولی برخی ژنوتیپ‌های انبه ایران با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره

منصوره شمیلی[۱]، محمدرضا فتاحی‌مقدم[۲]، علیرضا طلایی[۳]

۱- دانشجوی سابق دکتری گروه علوم باغبانی و عضو هیات علمی فعلی دانشگاه هرمزگان
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران
۳- استاد گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران
*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:

(تاریخ دریافت: - تاریخ پذیرش:)

چکیده

انبه یکی از میوه‌های مهم مناطق گرمسیر و سرشار از مواد و عناصر غذایی است که در نواحی جنوبی ایران کشت و کار می‌شود. شناسایی ملکولی ژنوتیپ‌های انبه به مدیریت ژرم پلاسم و جلوگیری از نامگذاری اشتباه آنها کمک می‌نماید. در این تحقیق از ۱۶ نشانگر اختصاصی ریزماهواره جهت بررسی ارتباط ژنتیکی و تنوع موجود بین ۴۱ ژنوتیپ انبه موجود در ایران استفاده شد. در مجموع ۵۵ آلل با متوسط تعداد آلل موثر ۳/۵ عدد مشاهده شد. تعداد آلل بدست آمده بین۲ تا ٦ عدد بود. مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده شده و هتروزایگوسیتی مورد انتظار به ترتیب ۰/۳۰ تا ۰/۸۷ و ۰/۲۹ تا ۰/۸٤ بود. الگوی باندی حاصل از این ۱٦ جفت آغازگر توانست ژنوتیپ‌های پاکستانی را از هندی تفکیک نماید. به جز 'کلک سرخ-۲' و 'کلک سرخ-۳' سایر ژنوتیپ‌های همنام در شاخه‌های متفاوت قرار گرفتند همچنین تعداد ۱۸ اختصاصی در مجموعه ژنوتیپ‌های مورد بررسی بدست آمد که بیشترین تعداد ان متعلق به 'سندری ۲' و 'لانگرا ۱' بودند

واژه‌های کلیدی

انبه،
تنوع ژنتی‌کی،
نشانگر مولکولی،
ری‌زماهواره،

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

مقدمه

انبه سلطان میوه‌ها، گیاهی دیپلوئید (۲n=۲ x=۴۰) با ژنوم حدود ۸/۸ x ۱۰^۸ جفت باز است (۸). تولید جهانی انبه در سال ۲۰۰۷ (حدود ۷۰ میلیون تن) آن را همراه با موز، مرکبات، سیب و انگور، جزء پنج میوه اصلی دنیا از نظر تولید قرار داده است. کشورهای هند، چین، تایلند، مکزیک، پاکستان و اندونزی حدود ۷۵ درصد تولید جهانی آن را دارا میباشند و کشور هند به تنهایی ۴۰ درصد تولید جهانی را دارد (www.fao.org). حدود ٤۰۰۰ سال است که انبه در هند و جنوب شرق آسیا کشت و کار می‌شود. مطالعات انجام شده راجع به منشاء و ناحیه پراکنش جغرافیایی این گیاه حاکی از آن است که هند با داشتن حدود ۱۰۰۰ رقم شناخته شده دارای بیشترین تنوع ژنتیکی از این گیاه بوده و به عنوان مبدا اولیه تنوع آن شناخته می‌شود. با این حال به دلیل وجود تنوع بسیار بالا از ژرم پلاسم این گیاه در کشورهای واقع در جنوب شرق آسیا، ناحیه تنوع ثانویه انبه را کشورهای میانمار، بنگلادش و فیلیپین در نظر گرفته‌اند (۱۷ و ۲۴).

بنا بر شواهد موجود، انبه ٤۰۰ سال پیش وارد ایران شده است. اکثر ارقامی که امروزه در کشور کشت و کار می‌شوند از کشورهای پاکستان و هندوستان وارد و در مناطق مختلف به اسامی متفاوت نامگذاری شده اند درنتیجه گاهی ژنوتیپ‌هایی که حتی ظاهر مشابهی ندارند دارای نام واحد می‌باشند که تشخیص آنها را مشکل ساخته است. علاوه بر آن گرده افشانی آزاد باعث تولید مجموعه‌ای هتروزایگوت از این نمونه‌ها در کشور شده است. انتخاب ارقام محلی بر اساس دارا بودن برخی صفات مطلوب منجر به گزینش نمونه‌های موجود شده است، اما روابط خویشاوندی ژنتیکی بین این ژنوتیپ‌ها و میزان قرابت و نزدیکی آنها تاکنون مورد توجه قرار نگرفته است (۱).

پژوهش‌های انجام شده روی گیاه انبه در ایران از سابقه چندانی برخوردار نمی‌باشد، ضمن این که این مطالعات عمدتا بر صفات مورفولوژیک استوار بوده است و بیشتر صفات میوه را مورد تاکید قرار داده است (۲، ۳، ۴ و ۶). شمیلی و همکاران (۱۳۸۸) ٤۸ صفت کمی و کیفی را در ٤۸ ژنوتیپ انبه مورد بررسی قرار دادند. صفات مورد بررسی شامل مشخصات گل، برگ و دمبرگ، میوه و هسته، میزان ویتامین C میوه، میزان TSS آب میوه، درصد اسیدیته میوه، pH آب میوه و عملکرد درخت بود. نتایج این تحقیق نشان داد که اکثر صفات مربوط به میوه، مواد درونی و زمان گل دهی عوامل اصلی در تجزیه به عامل‌ها را تشکیل دادند. به طور کلی صفات موثر در ١٦ گروه عاملی قرار گرفتند که در مجموع ۸۳/۷٪ از کل تغییرات را توجیه نمودند. تجزیه کلاستر با استفاده از این عوامل توانست ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به دو گروه اصلی شامل ژنوتیپ‌های هندی و پاکستانی تفکیک نماید (۵).

با وجود این که بررسی‌های مورفولوژیک همچنان به عنوان مبنا و اولین مرحله در مطالعه پتانسیل ژرم پلاسم و طبقه بندی آنها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۸)، اما اغلب به تنهایی نمی‌توانند برای شناسایی روابط ژنتیکی ارقام استفاده شوند (۱۵ و ۱۷). امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی برای انگشت نگاری ژنتیکی جایگاه ویژه‌ای پیدا نموده است و نشانگرهای مولکولی خصوصاً در آشکار نمودن تنوع ژنتیکی گیاهان خویشاوند وقتی نشانگرهای فنوتیپی قادر به تشخیص آن نیستند، مفید می‌باشند. نشانگرهای مولکولی نسبت به نشانگرهای مورفولوژیکی کاراتر و قابل اعتمادتر بوده، از نظر تعداد نامحدود و معمولا کمتر تحت تاثیر شرایط رشدی گیاه قرار می‌گیرند (۸ و ۱۷).

اولین گزارش استفاده از نشانگرهای مولکولی جهت تشخیص ارتباط ژنتیکی بین گونه‌های انبه و همچنین تشخیص ارقام آن در سال ۱۹۹۳ توسط اشنل و نایت صورت گرفت. آنها روابط ژنتیکی ۹ گونه از Mangifera را توسط آغازگرهای ۱۰ نوکلئوتیدی تصادفی مورد بررسی قرار دادند (۲۳). پس از آن گزارش‌های متعددی در زمینه موفقیت کاربرد نشانگرهای مولکولی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی در انبه ارائه شده است (۹، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۲۰ و ۲۱). ریزماهواره‌ها که به عنوان توالی‌های کوتاه تکراری[1] (STRs) شناخته شده‌اند، واحدهای تکراری پشت سر هم به طول ۱۰-۱ جفت باز می‌باشند. این نشانگرها به طور فراوان در ژنوم وجود داشته و چندشکلی مناسبی نشان می‌دهند. علاوه بر آن دارای خصوصیاتی مانند قابلیت اتوماسیون، توارث همبارز و سهولت در استفاده می‌باشند (۸).

[1] Short Tandom Repeats (STRs)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

هرچند در انبه گزارش‌هایی از کاربرد موفقیت آمیز نشانگرهای ریزماهواره در ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود می‌باشد، اما مکان آغازگرها بر روی کروموزوم‌های آن مورد بررسی قرار نگرفته است. در تحقیق آداتو و همکاران (۱۹۹۵) انگشت نگاری DNA توسط پروب‌های ریز ماهواره جهت شناسایی و تشخیص روابط ژنتیکی ۲۶ رقم و ۱۴ پایه انبه به کار گرفته شد (۷). ایدانگ و همکاران (۱۹۹۹) به منظور تفکیک ارقام انبه تک جنین از چند جنین از نشانگر ریزماهواره استفاده نمودند اما این نشانگر نتوانست ژنوتیپ‌ها را بر این اساس تشخیص دهد (۱۱).

اشنل و همکاران (۲۰۰۵) تعداد ۱۵ مکان ریز ماهواره را ازگونه *Mangifera indica* شناسایی و با آزمایش آنها روی ۵۹ رقم از فلوریدا و همچنین ۴ گونه دیگر از جنس Mangifera به این نتیجه رسیدند که ۱۳ مکان از آنها دارای چند شکلی می‌باشند. نتایج این تحقیق حاکی از مفید بودن این نشانگرها به منظور تشخیص ارقام و گونه‌های Mangifera بود (۲۲). دووال و همکاران (۲۰۰۵) موفق به معرفی مکان‌های جدید ریزماهواره‌ای در انبه شدند. در تحقیق مذکور ۲۸ جفت آغازگر قادر به تشخیص چند شکلی در ۱۵ رقم انبه و ۲ گونه نزدیک به آن شدند. تعداد آلل‌ها بین ۱۳-۳ و میزان هتروزایگوسیتی بین ۰/۸۵-۰/۵۹ بود (۱۰).

با توجه به برنامه وزارت جهاد کشاورزی ایران در توسعه باغات انبه در استان هرمزگان، تشخیص ژنوتیپ‌های هم نام از یکدیگر و کاهش اشتباه در نام گذاری‌ها می‌تواند گام موثری در ایجاد و گسترش کلکسیون آن در کشور باشد، ضمن اینکه انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی احتمالی با دقت کافی انجام خواهد شد. به دلیل برتری نشانگرهای ریزماهواره در بررسی چندشکلی ژنتیکی در انبه، در این تحقیق از آنها به منظور بررسی روابط ژنتیکی ۴۱ ژنوتیپ انبه ایران مورد استفاده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شامل ۴۱ ژنوتیپ بودند (جدول ۱) که نمونه‌های برگی آنها از شهرستان‌های بندرعباس (دهستان سیاهو، روستای وایکان)، شهرستان میناب (مرکز تحقیقات کشاورزی میناب، روستای گلشوار، روستای تمبانو، روستای عظیم آباد، روستای فخر آباد)، رودان (روستای بند مولا، روستای کهنوج بالا، روستای برنطین) و همزمان با شروع رشد رویشی جدید شاخه‌ها در خرداد ماه جمع آوری گردید. به جز دو ژنوتیپ پاکستانی 'سندری' و 'لانگرا' که طی چند سال اخیر وارد کشور گردیده‌اند و جزء ارقام کاملا شناخته شده در منطقه هستند، سایر نمونه‌ها ژنوتیپ‌هایی بودند که از سالیان طولانی وارد کشور شده ولی اطلاعات زیادی از نحوه ورود بسیاری از این ژنوتیپ‌ها به ایران درد دسترس نمی‌باشد. بنا به اظهارات مالکان درختان از مجموع نمونه‌های جمع آوری شده منشاء احتمالی چهار ژنوتیپ از پاکستان و سایر ژنوتیپ‌ها از هندوستان بود. اسامی، محل جمع آوری و منشاء احتمالی نمونه‌ها در جدول ۱ آمده است.

استخراج DNA با استفاده از روش موری و تامسون با اندکی تغییرات (۱۹) و در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران انجام شد. تکثیر DNA در حجم ۱۵ میکرولیتر (هر تیوب حاوی ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر (۰/۴ میلی مولار) بود که آغازگر رو به جلو با رنگ‌های فلورسنت WELLRED نشان‌دار شده بود، ۰/۶ میکرولیتر از هر نوکلئوتید (۰/۱ میلی مولار)، ۱/۲ میکرولیتر $MgCl_2$ (۰/۲ میلی مولار)، ۰/۰۱٪ از Tween 20، ۱/۵ میکرولیتر از بافر Tris–HCl (pH = 8/8)، ۸/۳ میکرولیتر آب، ۲ میکرولیتر از DNA ژنومی (۲۵ نانو گرم) و ۰/۶ میکرولیتر (۰/۵ واحد) از DNA پلی مراز BioTaqTm) انجام شد (۲۴). واکنش تکثیر DNA توسط دستگاه ترموسایکلر بیوراد[2] با برنامه PCR شامل یک دقیقه دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، سپس ۳۵ چرخه شامل ۳۰ ثانیه واسرشت در ۹۴ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه اتصال در ۵۵ درجه سانتی گراد و ۱ دقیقه بسط در ۷۲ درجه سانتی گراد و سپس مرحله پایانی بسط ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد صورت گرفت. طول یابی آلل‌ها توسط دستگاه الکتروفورز کاپیلاری مدل CEQ TMsans 8000 مورد بررسی قرار گرفت. این عمل ۳ بار تکرار گردید تا از صحت داده‌ها اطمینان کامل حاصل شود. تشخیص و تفکیک قطعات DNA در سیستم الکتروفورز کاپیلاری توسط لیزرهای حساس به نور فلورسنت

[2] Bio-Rad Laboratories- Hercules- CA USA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

صورت می‌گیرد. در صورت ردیابی رنگ فلورسنت در انتهای '۵ قطعه DNA تکثیر شده با آغازگر فلورسنت، لیزر دستگاه تحریک می‌گردد. با هر بار تحریک لیزر، نور فلورسنت در طول موج‌های مختلف ساطع می‌شود که در نهایت به وسیله یک ردیاب دریافت شده و توسط سیستم به صورت اندازه باند (بر حسب جفت باز) نمایش داده می‌شود (شکل ۱). این بخش از کار در موسسه تحقیقاتی CSIC واقع در کشور اسپانیا انجام شد. آغازگرهای مورد استفاده از سری آغازگرهای معرفی شده توسط ویروئل و همکاران بود که مشخصات آنها در جدول۲ آمده است.

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌های انبه مورد استفاده، منطقه جمع آوری و منشاء احتمالی آنها برای مطالعه با نشانگر ملکولی SSR

شماره	ژنوتیپ	نام اختصاری	محل جمع آوری	منشاء احتمالی	شماره	ژنوتیپ	نام اختصاری	محل جمع آوری	منشاء احتمالی
۱	لانگرا-۱	LANGRA-1	میناب	پاکستان	۲۲	کیلو	KILOO	رودان	هندوستان
۲	سندری-	SENDERI-1	میناب	پاکستان	۲۳	میخکی-۲	MIKHAKI-2	رودان	هندوستان
۳	هلو	HELOV	میناب	هندوستان	۲٤	نباتی-۲	NABATI-2	رودان	هندوستان
٤	بی نام-۱	ANONYM-1	میناب	هندوستان	۲۵	بلرسان	BELERSAN	رودان	هندوستان
۵	دودو	DOODOO	میناب	هندوستان	۲٦	آلمهتری-۲	ALMEHTA-2	رودان	هندوستان
٦	آلمهتری-	ALMEHTA-1	میناب	هندوستان	۲۷	شاهانی	SHAHANI	رودان	هندوستان
۷	اربابی	ARBABI	میناب	هندوستان	۲۸	بی نام-۵	ANONYM-5	رودان	هندوستان
۸	زرک	ZARAK	میناب	هندوستان	۲۹	بی نام-٦	ANONYM-6	رودان	هندوستان
۹	مجلسی	MAJLESI	میناب	هندوستان	۳۰	بی نام-۷	ANONYM-7	رودان	هندوستان
۱۰	بی نام-۲	ANONYM-2	میناب	هندوستان	۳۱	بی نام-۸	ANONYM-8	رودان	هندوستان
۱۱	مشک	MOSHK	میناب	هندوستان	۳۲	بی نام-۹	ANONYM-9	رودان	هندوستان
۱۲	بی نام-۳	ANONYM-3	میناب	هندوستان	۳۳	کلک سرخ-۲	KALAK-2	رودان	هندوستان
۱۳	کلک	KALAK-1	میناب	هندوستان	۳٤	چارک-۲	CHARAK-2	رودان	هندوستان
۱٤	چارک-۱	CHARAK-1	میناب	هندوستان	۳۵	خیار-۲	KHIYAR-2	رودان	هندوستان
۱۵	خیار-۱	KHIYAR-1	میناب	هندوستان	۳٦	کلک سرخ-۳	KALAK-3	رودان	هندوستان
۱٦	حاجی	HAJI	میناب	هندوستان	۳۷	گل	GOL	سیاهو	هندوستان
۱۷	سندری-	SENDERI-2	میناب	پاکستان	۳۸	خودرو	KHODROO	سیاهو	هندوستان
۱۸	بی نام-٤	ANONYM-4	میناب	هندوستان	۳۹	بی نام-۱۲	ANONYM-12	سیاهو	هندوستان
۱۹	لانگرا-۲	LANGRA-2	رودان	پاکستان	٤۰	نساء	NESAA	سیاهو	هندوستان
۲۰	خوشه ای	KHOOSHEI	رودان	هندوستان	٤۱	زاپاک	ZAPAK	سیاهو	هندوستان
۲۱	میخکی-	MIKHAKI-1	رودان	هندوستان					

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

جدول ۲- اسامی آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده برای بررسی ۴۱ ژنوتیپ انبه*

جایگاه ریزماهواره	شماره دسترسی به نشانگر در GenBank	توالی جفت آغازگر(´3 – ´5)
LMMA1	AY628373	F:ATGGAGACTAGAATGTACAGAG R:ATTAAATCTCGTCCACAAGT
LMMA2	AY628374	F:AAATAAGATGAAGCAACTAAAG R:TTAGTGATTTTGTATGTTCTTG
LMMA3	AY628375	F:AAAAACCTTACATAAGTGAATC R:CAGTTAACCTGTTACCTTTTT
LMMA4	AY628376	F:AGATTTAAAGCTCAAGAAAAA R:AAAGACTAATGTGTTTCCTTC
LMMA5	AY628377	F:AGAATAAGCTGATACTCACAC R:TAACAAATATCTAATTGACAGG
LMMA6	AY628378	F:ATATCTCAGGCTTCGAATGA R:TATTAATTTTCACAGACTATGTTCA
LMMA7	AY628379	F:ATTTAACTCTTCAACTTTCAAC R:AGATTTAGTTTTGATTATGGAG
LMMA8	AY628380	F:CATGGAGTTGTGATACCTAC R:CAGAGTTAGCCATATAGAGTG
LMMA9	AY628381	F:TTGCAACTGATAACAAATATAG R:TTCACATGACAGATATACACTT
LMMA10	AY628382	F:TTCTTTAGACTAAGAGCACATT R:AGTTACAGATCTTCTCCAATT
LMMA11	AY628383	F:ATTATTTACCCTACAGAGTGC R:GTATTATCGGTAATGTCTTCAT
LMMA12	AY628384	F:AAAGATAGCATTTAATTAAGGA R:GTAAGTATCGCTGTTTGTTATT
LMMA13	AY628385	F:CACAGCTCAATAAACTCTATG R:CATTATCCCTAATCTAATCATC
LMMA14	AY628386	F:ATTATCCCTATAATGCCCTAT R:CTCGGTTAACCTTTGACTAC
LMMA15	AY628387	F:AACTACTGTGGCTGACATAT R:CTGATTAACATAATGACCATCT
LMMA16	AY628388	F:ATAGATTCATATCTTCTTGCAT R:TATAAATTATCATCTTCACTGC

شکل۱- نتایج الکتروفورز محصول PCR در دستگاه کاپیلاری برای دو مکان مورد بررسی که با رنگ‌های مختلف فلورسنتی انجام شده و اندازه آلل‌ها به صورت پیک گراف ثبت شده است

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

تجزیه و تحلیل داده‌ها: قطعات DNA تکثیر شده توسط نشانگرها بر اساس اندازه آلل‌ها (جفت باز) امتیازدهی شدند. نرم افزار ARLEQUIN(3.1) به منظور محاسبه تعداد آلل‌ها، هتروزایگوسیتی مشاهده شده و هتروزایگوسیتی مورد انتظار، نرم افزارهای POPGENE(32) و GENEPOP جهت محاسبه تعداد آلل موثر، فراوانی آلل‌ها و شاخص تثبیت ژنی به کار گرفته شدند. حضور آلل‌های اختصاصی در جمعیت توسط نرم افزار MSAT2 محاسبه شد. احتمال شباهت هر ژنوتیپ توسط نرم افزار IDENTITY(1.0) محاسبه گردید.

گروه بندی ژنوتیپ‌ها براساس ضریب تشابه دایس و ترسیم دندروگرام بر اساس روش UPGMA انجام شد. ضریب کوفنتیکی به منظور تعیین میزان برازش ماتریس تشابه و دندروگرام حاصله مورد محاسبه قرار گرفت. تجزیه به مختصات اصلی (PCoA)[3] توسط برنامه NTSYS(2.11) صورت گرفت.

نتایج و بحث

جدول ۳ مکان‌های SSR مورد بررسی، تعداد آلل بدست آمده، تعداد آلل موثر، هتروزایگوسیتی مشاهده شده، هتروزایگوسیتی مورد انتظار، شاخص تثبیت و احتمال یکسانی محاسبه شده برای این مکان‌ها را نشان می‌دهد. فراوانی آلل‌های حاصل از مکان‌های SSR به کار رفته در جدول ۴ آمده است. تمامی مکان‌های SSR مورد مطالعه به جز مکان LMMA5 چندشکل بودند و در نهایت ۵۵ آلل در محدوده ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تولید نمودند. ایدانگ و همکاران، اشنل و همکاران، ویروئل و همکاران و دووال و همکاران به ترتیب با استفاده از ۴۰، ۱۵، ۱۶ و ۲۸ مکان ریزماهواره توانستند ۵۶، ۱۳، ۸۸ و ۱۲۱ آلل چند شکل را در محدوده ۱۴، ۶۳، ۲۸ و ۱۷۰ ژنوتیپ انبه مورد مطالعه مشاهده نمایند (۱۰، ۱۱، ۲۲ و ۲۴).

بر اساس نتایج، متوسط تعداد آلل مشاهده شده معادل ۳ عدد بود که تعداد آلل بین ۲ تا ۶در مکان‌های مختلف مورد بررسی متفاوت بود. در نشانگر LMMA5 یک باند ۲۸۳ جفت بازی در تمام ژنوتیپ‌ها به صورت مشترک مشاهده شد. بیشترین تعداد آلل مربوط به مکان‌های LMMA3 و LMMA6 با ٦ آلل چند شکل و پس از آنها LMMA15 و LMMA11 با ۵ آلل چند شکل بودند. تعداد آلل موثر بین ۱ تا ۲/۷ محاسبه شد. ویروئل و همکاران و دووال و همکاران نیز به ترتیب تعداد آلل موثر۳/۵ و ۳/۱ را در بین نمونه‌های انبه مورد بررسی گزارش کرده‌اند (۱۰ و ۲۴). بیشترین مقدار هتروزایگوسیتی مشاهده شده در مکان‌های LMMA3 و LMMA11 برابر ۰/۸۷ و ۰/۸۳ و کمترین آن در نشانگر LMMA14 و LMMA2 برابر ۰/۳۰ و ۰/٤۸ بود. مکان‌های LMMA3 و LMMA11 همچنین بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار (به ترتیب ۰/۸٤ و ۰/۸۱) و نشانگر LMMA14 کمترین مقدار (۰/۲۹) را نشان دادند. با توجه به نتایج بدست آمده میتوان گفت که نشانگرهای LMMA3 و LMMA11 با بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، بیشترین شاخص چندشکلی را نشان داده و نسبت به سایر مکان‌ها توانسته است نمونه‌ها را بهتر تفکیک کند. هتروزایگوسیتی مشاهده شده در بین ژنوتیپ‌های انبه که توسط ویروئل و همکاران و دووال و همکاران گزارش شده است نیز به ترتیب ۰/۲۵ تا ۰/۸۶ و ۰/۳۹ تا ۰/۸۶ بوده است (۱۰ و ۲۴).

با توجه به پراکنش آلل‌ها در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، مقدار عددی احتمال یکسانی (PI) آنها پائین بود. کمترین مقدار PI که نشان دهنده تنوع حداکثر ژنوتیپ‌ها و قدرت تمایز بالای آن می‌باشد، مربوط به نشانگرهای LMMA6، LMMA10 و LMMA14 (۰/۱۳) بود. نشانگر LMMA9 بیشترین مقدار PI برابر با ۰/۵۵ را دارا بود که نشان از توانایی پایین این مکان در جداسازی ژنوتیپ‌ها دارد. در تحقیق ویروئل و همکاران که از نشانگرهای مذکور به منظور تفکیک تعدادی از ارقام انبه استفاده شده بود، بیشترین مقدار شاخص احتمال یکسانی معادل ۰/۶۶ و مربوط به نشانگر LMMA5 و کمترین میزان آن در نشانگر LMMA1 (۰/۱۱) مشاهده گردیده است (۲۴). منفی شدن مقدار شاخص تثبیت ژنی (F) نشان از بالاتر بودن هتروزایگوسیتی مشاهده شده نسبت به قابل انتظار بوده است. با توجه به تمایل ژنوتیپ‌های انبه به گرده افشانی آزاد که علت اصلی آن خود ناسازگاری شدید ژنوتیپها است و همچنین. رابطه عکس بین

[3] Principal Co-Ordinates Analysis

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

میزان هتروزایگوسیتی و تعداد آلل موثر با احتمال یکسانی و بالا بودن هتروزایگوسیتی مشاهده شده در مورد آنها میتوان منفی بودن شاخص تثبیت ژنی را توجیه کرد.

تعداد ۱۸ آلل اختصاصی در مجموعه ژنوتیپ‌های مورد بررسی مشاهده شد که اکثر آنها مربوط به ژنوتیپ‌های 'سندری-۲' و 'لانگرا-۱' بودند. ژنوتیپ‌های 'سندری-۱' دو آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA10، 'سندری-۲' دو آلل در مکان ریزماهواره LMMA2 و دو آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA10، 'خوشه ای' یک آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA2 و یک آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA3، 'لانگرا-۱' دو آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA6، یک آلل اختصاصی در هر یک از مکان‌های ریزماهواره LMMA9، LMMA11، LMMA13 و LMMA16، 'لانگرا-۲' یک آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA8، 'بی نام-۳' یک آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA15 و 'خیار-۱' یک آلل اختصاصی در مکان ریزماهواره LMMA15 را دارا بودند. با مشاهده آلل‌های اختصاصی، می‌توان ژنوتیپ‌های نامبرده را با احتمال بالا و گاهی استفاده از تک مکان SSRs تفکیک کرد. در تحقیقات دیگر نیز به قدرت نشانگر SSRs در تفکیک ژنوتیپ‌ها اشاره شده است (۹).

آنالیز کلاستر توانست ژنوتیپ‌های منطقه را بر اساس منشاء جغرافیایی تفکیک نماید (شکل ۲). ضریب کوفنتیکی بالایی (۰/۹۳۶) بین ماتریس تشابه و ماتریس کوفنتیکی مشاهده شد. دو ژنوتیپ پاکستانی 'سندری-۱'و 'سندری-۲' که از نظر ژنتیکی از سایر ژنوتیپ‌ها متفاوت بودند در شاخه‌های جداگانه قرار گرفتند، بدین ترتیب دو ژنوتیپ یاد شده به ترتیب با داشتن ۲ و ۴ آلل اختصاصی از سایر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تفکیک شدند. گروه دیگر شامل ژنوتیپ‌های هندی و قدیمی موجود در منطقه بود که در طول سالیان متمادی با شرایط آب و هوایی منطقه سازگار شده‌اند. در این مجموعه 'لانگرا-۱' و 'لانگرا-۲' نیز که دارای ۷ و ۱ آلل اختصاصی بودند در کلاستر مربوطه در شاخه‌های متمایزی قرار گرفتند و از نظر ژنتیکی الگوی متفاوتی از سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. اکثر ژنوتیپ‌های باقی مانده در حد تشابه ۰/۶ در یک شاخه گروه‌بندی شدند.

نتایج دسته بندی ژنوتیپ‌ها با نتایج حاصل از بررسی مورفولوژیکی که در مورد همین نمونه‌ها صورت گرفته بود (۵) هماهنگی دارد. شمیلی و همکاران به این نتیجه رسیدند که انبه‌های پاکستانی در مقایسه با انبه‌های هندی میوه و بذر بزرگ‌تری دارند، ضمن اینکه از نظر شکل، طعم، رنگ و عطر میوه، میزان فیبر، قند و ویتامین ث میوه رسیده نیز تفاوت‌هایی نشان دادند (۵). بر اساس نتایج شمیلی و همکاران ژنوتیپ‌های 'سندری-۱'و 'سندری-۲' که در این بررسی نیز بصورت جداگانه از سایر ژنوتیپ‌ها قرار گرفته‌اند، بیشترین مقدار وزن، طول، عرض و حجم میوه را دارا بودند (۵). قرار گرفتن برخی ژنوتیپ‌ها در فواصل بسیار نزدیک حاکی از تشابه ژنتیکی بالای آنها می‌باشد که نشان می‌دهد برخی از آنها در واقع کلون‌های رویشی از یک والد مادری می‌باشند و تفاوت مشاهده شده ناشی از جهش در یک صفت است. نتایج مشابهی از گروه‌بندی برخی ژنوتیپ‌های انبه بر اساس شکل میوه، نوع جنین و منشاء جغرافیایی توسط ویروئل و همکاران و ایدانگ و همکاران گزارش شده است (۱۱ و ۲۴).

نتایج این آزمایش نشان داد که به جز 'کلک سرخ-۲' و 'کلک سرخ-۳' سایر ژنوتیپ‌های همنام در شاخه‌های متفاوت و دور از یکدیگر قرار دارند. همچنین ژنوتیپ 'مشک' با 'چارک-۲' و 'بی نام-۶'، 'خودرو' با 'بی نام-۱۲' و ژنوتیپ‌های 'مجلسی' و'بی نام-۱' یکسان تشخیص داده شدند. نتایج تحقیق شمیلی و همکاران قادر به تفکیک ژنوتیپ‌های همنام نبود که این مساله نیاز به استفاده همزمان از نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی را در تفکیک ژنوتیپ‌ها آشکار می‌سازد (۵).

در این بررسی ۴۱ ژنوتیپ توسط ۱۶ جفت مکان ریزماهواره انجام شد که به طور متوسط حدود ۴ الل در هر مکان بدست آمد و درصد بالایی از آلل‌های اختصاصی در مکان‌های مورد بررسی (۳۲ درصد مکان‌ها) مشاهده شد که اکثر این آلل‌های اختصاصی متعلق به نمونه‌های پاکستان بودند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

بطور کلی میتوان نتیجه گرفت که ژنوتیپ‌های انبه موجود در ایران تنوع نسبتا بالایی در مکان‌های SSR مورد بررسی دارند و با توجه به اینکه در هر مکان یک یا دو آلل از فراوانی نسبتا بالاتری برخوردار بودند لذا احتمال مشترک بودن جد اولیه این ژنوتیپ‌ها بسیار بالاست که میتواند از ژنوتیپ‌های قدیمی‌تر پاکستان یا هند وارد کشور شده به تدریج از طریق پیوند و یا از طریق انتخاب دانهال‌های بذری برتر در سراسر کشور گسترش یافته باشد. به طوریکه ژنوتیپ‌های جدیدتر پاکستانی و یا هندی فاصله ژنتیکی بیشتری با آنها نشان دادند.

جدول ۳- پارامترهای ژنتیکی ۱۶ نشانگر SSR استفاده شده در ۴۱ ژنوتیپ انبه ایران

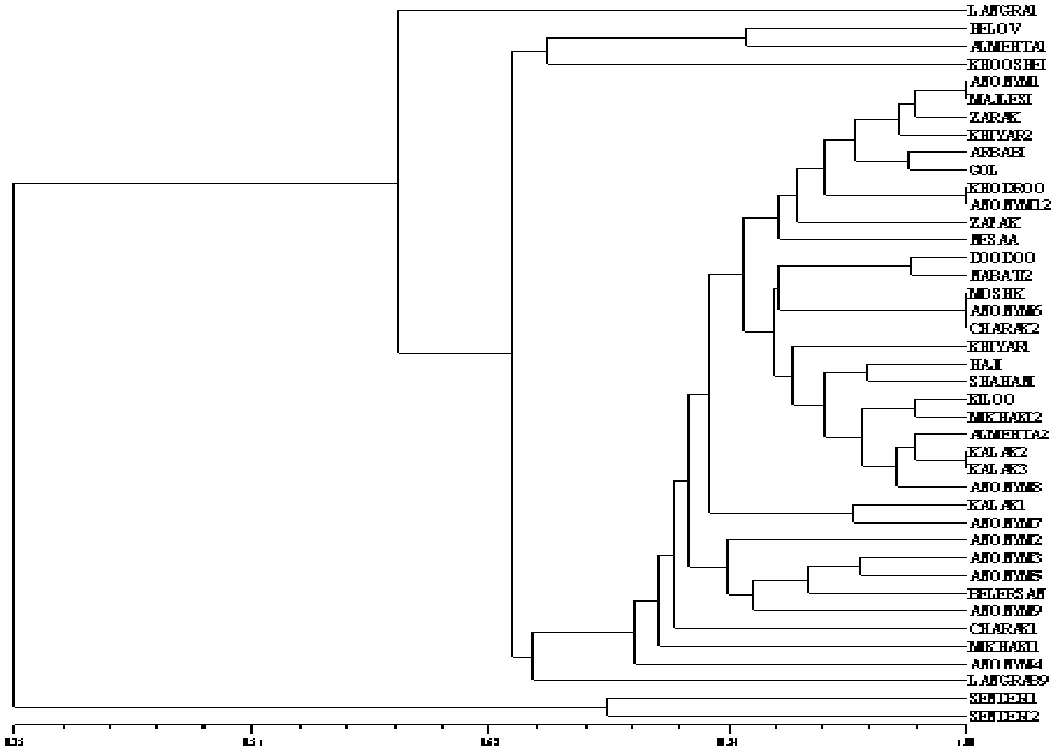
جایگاه ریزماهواره	تعداد آلل مشاهده شده	تعداد آلل موثر	هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho)	هتروزایگوسیتی مورد انتظار (He)	شاخص تثبیت (F)	احتمال یکسانی (PI)
LMMA1	۳	۲/۰۹	۰/۶۸	۰/۶۵	-۰/۰۴	۰/۱۹
LMMA2	٤	۱/۰۷	۰/٤۸	۰/۳۹	-۰/۲۳	۰/۲۱
LMMA3	٦	۱/۵۱	۰/۸۷	۰/۸٤	-۰/۰۳	۰/۱۵
LMMA4	۳	۱/۸۹	۰/۵۳	۰/٤۷	-۰/۱۲	۰/۲۲
LMMA6	٦	۲/۰۹	۰/۵۵	۰/۳۹	-۰/٤۱	۰/۱۳
LMMA7	۳	۱/۲۸	۰/۵۹	۰/۵٤	-۰/۰۹	۰/۲٦
LMMA8	۳	۱/۲۱	۰/۵۳	۰/۵۰	-۰/۰٦	۰/۲۲
LMMA9	۳	۱/۰۷	۰/۷۳	۰/۷۱	-۰/۰۳	۰/۵۵
LMMA10	۳	۱/۰۵	۰/٦۲	۰/٦۱	-۰/۰۱	۰/۱۳
LMMA11	۵	۲/۷۱	۰/۸۳	۰/٦۱	-۰/۳	۰/۱۵
LMMA12	۳	۱/۸۹	۰/۵۱	۰/٤۷	-۰/۰۸	۰/۱۵
LMMA13	۳	۱/۱۳	۰/٦٤	۰/۵۱	-۰/۲۵	۰/۵۰
LMMA14	۲	۱/۲۷	۰/۳۰	۰/۲۹	-۰/۰۳	۰/۱۳
LMMA15	۵	۱/۱۹	۰/۷۹	۰/۷۷	-۰/۰۲	۰/۱۹
LMMA16	٤	۱/۱۹	۰/۷٦	۰/۷۵	-۰/۰۱	۰/۱۹
میانگین	۳/۷	۱/۵۰	۰/٦۲	۰/۵۸	-۰/۰۹	۰/۲۲

جدول ٤- فراوانی آلل‌های حاصل از ١٦ مکان SSR استفاده شده در ٤١ ژنوتیپ انبه ایران

آلل مشاهده شده	مکان ریز ماهواره مورد بررسی															
	LMMA1	LMMA2	LMMA3	LMMA4	LMMA5	LMMA6	LMMA7	LMMA8	LMMA9	LMMA10	LMMA11	LMMA12	LMMA13	LMMA14	LMMA15	LMMA16
A	۰/۰۷	۰/۹۳	۰/۱۳	۰/۳۸	۱	۰/۰۵	۰/۸۲	۰/۱۳	۰/۹۳	۰/۹۱	۰/۱٤	۰/۳۷	۰/۰۲	۰/۸۲	۰/۸۵	۰/۱۱
B	۰/۸۹	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۵۹		۰/۰۵	۰/۱٤	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۵۹	۰/۰۹	۰/۱۸	۰/۰٤	۰/۷۵
C	۰/۰٤	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۳		۰/۵۷	۰/۰٤	۰/۸۵	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۰٦	۰/۰۵	۰/۸۹		۰/۰۲	۰/۰٦
D		۰/۰۲	۰/۷۱			۰/۲۹				۰/۰۲	۰/٤٦				۰/۰۷	۰/۰۸
E			۰/۰۵			۰/۰۲				۰/۰۲	۰/۳۲				۰/۰۲	
F			۰/۰۲			۰/۰۲										

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]



شکل ۲- دندروگرام مربوط به گروه بندی ۴۱ ژنوتیپ انبه مورد بررسی با نشانگرهای SSR، بر اساس ماتریس تشابه دایس و روش گروه بندی UPGMA (اسامی ژنوتیپ‌ها به همراه نام اختصاری آنها در جدول ۱ آمده است)

سپاسگذاری: از معاونت پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و همچنین موسسه تحقیقاتی CSIC کشور اسپانیا به جهت فراهم نمودن هزینه‌ها و امکانات انجام این آزمایش سپاسگذاری می‌شود.

منابع

۱- امامی س(۱۳۸۰) کشت و پرورش انبه، دفتر تولید برنامه های ترویجی و انتشارات فنی.

۲- راستگو س(۱۳۸۰) بررسی تنوع ژنتیکی دانهال های انبه در برخی از نقاط استان هرمزگان با استفاده از برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیکوشیمیایی و معرفی ژنوتیپ‌های برتر، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران.

۳- سابکی الف و حاجیان س (۱۳۸۳) شناسایی جمع آوری و مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف ارقام انبه، مرکز تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر سیستان و بلوچستان.

۴- سماوی اوزی ح و سعیدی غ (۱۳۷۰) شناسایی و جمع آوری اقام انبه استان هرمزگان، گزارش سالانه مرکز تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر هرمزگان.

۵- شمیلی م، طلائی ع، فتاحی مقدم م ر (۱۳۸۸) بررسی تنوع ژنتیکی و الگوی باردهی ژنوتیپ‌های انبه ایران. رساله دکتری گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران

۶- لطیفی خواه الف (۱۳۸۱) بررسی تنوع ژنتیکی دانهال های انبه در برخی از نقاط استان سیستان و بلوچستان با استفاده از برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیکوشیمیایی و معرفی ژنوتیپ‌های برتر، پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.

7- Adato A, D Sharon, U Lavi, J Hillel, and S Gazit (1995) Application of DNA fingerprints for identification and genetic analysis of mango (*Mangifera indica*) genotypes, Journal of American Society for Horticultural Sciencences, 120:259-264.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]

8- Ciofi C, S M Funk, T Coote, D J Cheesman, R L Hammon, I J Sacoheri and M W Bruford, (2001) Molecular tools for screening biodiversity in plants and animals. Karp A P, G Isaac and D S Ingram(ed), Kluwer academic publication, pp 288 -296.
9- Degani C, R El-Batsri, and S Gazit (1990) Enzyme polymorphism in mango, Journal of American Society for Horticultural Sciences, 115:844-847.
10- Duval M F, J Bunel, C Sitbon, and A Risterucc (2005) Development of microsatellite markers for mango (*Mangifera indica* L.), Molecular Ecology Notes, 5:824-826.
11- Eiadthong W, K Yonemori, A Sugiura, N Utsunomiya, and S Subahadrandhu (1999) Identification of mango cultivars of Thailand and evaluation of their genetic variation using the amplified fragments by simple sequence repeat (-SSR-) anchored primers, Scientia Horticulturae, 82:57-66.
12- He Xin-Hua G, L Yong-ze, I Yang-mi, and O U Sh-jin (2007) Assessment of the genetic relationship and diversity of mango and its relatives by cpISSR marker, Agriculture Science in China, 6:137-142.
13- Ishtiaq A R, N Tabbasam, A Ullah Malik, S Ahmad Malik, Y Zafar, and M Rahman (2008) Assessment of genetic diversity among mango (*Mangifera indica* L.) genotypes using RAPD markers, Scientia Horticulturae, 117:297–301.
14- Jintanawongse S, and S Changtragoon (2000) Identification of cultivars and certification of hybrids in mango (*Mangifera indica*) by isoenzyme gene markers, Acta Horticulturae, 509:177-184.
15- Karihaloo J L, and Y K Dwivedi (2003) Analysis of Indian mango cultivars using RAPD markers, Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78:285-289.
16- Kashkush k, F Jinggui, E Tomer, and U Lavi (2001) Cultivar identification and genetic map of mango (*Mangifera indica*), Euphytica,122:129-136.
17- Lopez J A, O Martinez, and O Paredes-Lopez (1997) Geographic differentiation and embryo type identification in *Mangifera indica* cultivars using RAPD markers, Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 32:1105-1108.
18- Mukhreji S K (1989) Descriptors for mango, International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
19- Murray M G, and W F Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA, Nucleic Acids Research, 8:4321-4326.
20- Ravishankar K V, L Anand , and M R Dinesh (2000) Assessment of genetic relatedness among mango cultivars of India using RAPD markers, Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 15:198-201.
21- Schnell R J, C M Ronning, and R J Knight (1995) Identification of cultivars and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* using RAPD markers, Theoretical and Applied Genetics, 90:269-274.
22- Schnell R J, C T Olano, W E Quintanilla, and A W Meerow (2005) Isolation and characterization of 15 microsatellite loci from mango (*Mangifera indica* L.) and cross-species amplification in closely related taxa, Molecular Ecology Notes, 5:625-627.
23- Schnell R J, and R J Knight (1993) Genetic relationships among *Mangifera spp*. based on RAPD markers, Acta Horticulturae, 341:86-92.
24- Viruell M A, P Escribano, M Barbieri, M Ferri, and J I Hormaza (2005) Fingerprinting embryo type and geographic differentiation in mango (*Mangifera indica* Anacardiaceae) with micro-satellites, Molecular Breeding, 15:383–393.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1388.4.3.3.1]