ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳
صفحه ۱۵۰-۱۴۳

استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و تنوع بالادستی فاکتور رونویسی *MYB10* در مطالعه تنوع ژنتیکی سیب‌های گوشت قرمز در ایران

Analysis of genetic variation among red flesh apple genotypes using microsatellite markers and polymorphism of *MYB10* gene

ابراهیم محمودی*[۱]، عباس یداللهی[۱]، بهرام محمدسلطانی[۱]، لیلا دهاقین[۱]، شاداب فرامرزی[۱]

۱- به ترتیب کارشناس‌ارشد، استادیاران و کارشناسان‌ارشد دانشگاه تربیت مدرس، تهران

Mahmoudi E*[1], Yadollahi A[1], Mohammad Soltani B [1], Dahaghin L[1], Faramarzi S[1]

1. Graduate Student, Assistant Professors, Graduated Students, Tarbiat Modares University, Tehran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: eb.mahmoudi@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲۵- تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۱)

چکیده

سیب‌های گوشت قرمز از نژادگان‌های سیب ایرانی هستند که حاوی مقادیر بالای آنتوسیانین در کورتکس وگوشت می‌باشد که موجب ایجاد رنگ قرمز درون میوه شده است. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی این ژنوتیپ‌های گوشت قرمز بومی، تعداد ۲۰ ژنوتیپ گوشت قرمز و سفید انتخاب شد و با استفاده از ۱۱ جفت آغازگر ریزماهواره مورد ارزیابی قرار گرفتند که از این میان ۷ جفت آغازگر چندشکلی مناسبی بین کل ژنوتیپ‌ها نشان دادند و در مجموع ۵۶ آلل را شناسایی کردند. تعداد الل در هر مکان ژنی بین ۳ تا ۱۱ متغیر و با میانگین ۸ بود. میانگین تعداد الل موثر مقدار ۵/۷۴ برآورد شد. همچنین هتروزیگوسیتی قابل مشاهده ۰/۶ و هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۷۷ محاسبه شد. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه دایس به عنوان معیار مقایسه و روش UPGMA انجام گرفت که کل ژنوتیپ‌ها به هفت گروه تقسیم شدند. بر اساس دندروگرام، ارتباطی میان گروه‌بندی و منشا جغرافیایی مشاهده نشد و بنابراین ژنوتیپ‌های مربوط به مناطق یکسان در گروه‌های متفاوت قرار گرفتند. از آنجا که عامل رنگ قرمز گوشت در سیب فاکتور رونویسی MYB10 می‌باشد لذا به منظور بررسی پلی‌مورفیسم احتمالی این ژن در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ناحیه بالا دست ژن جداسازی و تعیین توالی شد. نتایج نشان داد که یک ناحیه تکراری شامل پنج تکرار در ژنوتیپ‌های گوشت قرمز وجود دارد که در ژنوتیپ‌های سفید موجود نیست. با توجه به خودناسازگاری سیب به نظر می‌رسد که تلاقی ژنوتیپ‌های گوشت قرمز هتروزیگوت (حامل ژن *MdMYB10*) با ژنوتیپ‌های گوشت سفید منجر به تولید ارقام سفید و قرمز نزدیک (از لحاظ ژنتیکی) شده است.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
سیب گوشت قرمز
نشانگر ریزماهواره
DNA
MYB10

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]

مقدمه

سیب گوشت قرمز یکی از نژادگان سیب ایرانی است که دارای مقادیر متفاوتی از آنتوسیانین (کم تا زیاد) در کورتکس میوه می-باشد و همین امر سبب تمایز آن از سیب معمولی و ایجاد ظاهر جذاب شده است (Faramarzi 2011). آنتوسیانین دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه است که موجب رنگدهی در گیاهان می‌شود. آنتوسیانین در جلوگیری از بیماری‌های قلبی، سرطان و دیابت نقش دارد (Konczak et al. 2004). تنظیم ژن‌های مسیر آنتوسیانین توسط فاکتورهای رونویسی MYB صورت می‌گیرد. ژن‌های *MYB* در بسیاری از گیاهان شناسایی و تعیین هویت شده‌اند (Allan et al. 2008). در سیب ژن‌های *MdMYB1* و *MdMYB10* به ترتیب مسئول رنگ قرمز در پوست و گوشت میوه می‌باشند (Ban et al. 2007; Espley et al. 2007). این ژن‌ها در انتهای کروموزوم ۹ سیب قرار دارند (Chagne et al. 2007) و با افزایش سطح رونویسی آنها، میزان آنتوسیانین نیز افزایش می-یابد (Ban et al. 2007; Espley et al. 2007).

نشانگرهای ریزماهواره یک توالی تکراری DNA می‌باشد که عموماً شامل واحد ۶-۱ نوکلئوتیدی است. به علت توانایی بالای این نشانگرها در نشان دادن پلی‌مورفیسم، توارث همبارز و فراوانی نسبی در ژنوم از آنها برای مطالعات رده‌بندی، بررسی تنوع ژنتیکی و ترکیب نقشه‌های لینکاژی گونه‌های مختلف استفاده می‌شود. بررسی‌های زیادی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بمنظور بررسی ژنتیکی سیب انجام شده است. نشانگرهای SSR در مطالعات ژنتیکی و انگشت نگاری گونه‌های درختان میوه دانه دار مانند سیب و گلابی نسبت به سایر نشانگرها کاربرد وسیع‌تری دارند (Gianfranceschi et al. 1998). در بررسی دیگری ۱۴۲ رقم از ۲۳ گونه سیب با ۸ نشانگر SSR سطح بالای تنوع با متوسط ۲۶/۴ الل در هر مکان ژنی گزارش شد (Hokanson et al. 1998). در مطالعه دیگر ۶۶ رقم سیب تجاری از ۶ آغازگر SSR استفاده شد که ۵۵ الل با میانگین الل ۹/۲ در هر مکان ژنی شناسایی شد (Gábor et al. 2005). در یک پژوهش ۳۵۰ رقم از اروپا توسط ۸۰ نشانگر ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت و بیان داشت اهمیت این نشانگرها در ارزیابی ژنوم سیب احتمالاً به پراکنش مناسب آنها در سطح ژنوم مرتبط است (Silfverberg-Dilworth et al. 2006). همچنین به کمک این نشانگرها پراکنش ژنتیکی میان ژنوتیپ‌های مختلف سیب ارزیابی شده است (Gianfranceschi et al. 1998; Hokanson et al. 1998). علاوه بر این با استفاده از ریزماهواره‌ها مطالعات تکاملی در مورد منشا سیب صورت گرفته است (Harris et al. 2002). با بهره‌گیری از نشانگرهای ریز ماهواره و ISSR، انگشت نگاری و تعیین درجه شباهت بین ۴۱ رقم تجاری سیب انجام شد و نتیجه‌گیری شد که SSR و ISSR، برای شناسایی ارقام و ارزیابی روابط ژنتیکی سودمندتر از دیگر روش‌های مبتنی بر PCR هستند (Goulao et al. 2001). در ایران نیز تاکنون چندین مطالعه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره صورت گرفته است. تنوع ژنتیکی ۳۳ رقم و ژنوتیپ سیب ایرانی با چهار نشانگر ریزماهواره بررسی و به ده گروه طبقه‌بندی شد که گروه‌ها بر اساس منشا جغرافیایی و یا خصوصیات میوه نتایج منطقی داشتند (Ershadi 2002). همچنین انگشت‌نگاری و بررسی روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های سیب گلاب ایران انجام شد که تنوع ژنتیکی کمی بین سیب‌های گلاب گزارش شد (Nagshin et al. 2008). در مطالعه دیگر، منشا و تکامل سیب و همچنین روابط ژنتیکی ۱۵۹ رقم داخلی و خارجی بررسی شد و نتایج گروه‌بندی منطقی ارزیابی شد (Gharghani et al. 2009). همچنین تنوع ژنتیکی ۴۴ رقم سیب از مناطق مختلف ایران به کمک ۱۶ جفت نشانگر ریزماهواره ارزیابی شد که در این بررسی ۴۵ الل شناسایی شناسایی و جمعیت مورد مطالعه خارج از تعادل هاردی- واینبرگ گزارش شد (Farrokhi et al. 2012). در یک پژوهش کارایی نشانگر ملکولی ریزماهواره (SSR) در شناسایی ۲۴ ژنوتیپ و ۵ پایه بومی و خارجی سیب مورد بررسی قرار گرفت که نتایج بیانگر کارایی بالای نشانگر ریزماهواره در شناسایی ارقام و پایه های سیب بود (Gahromee et al. 2009).

مواد و روش‌ها

جمع آوری مواد گیاهی

در اردیبهشت ۱۳۸۸ عملیات نمونه‌گیری از درختان سیب صورت گرفت. تعداد ۲۰ رقم گوشت قرمز و سفید مورد مطالعه قرار گرفت (جدول۱) که ۱۷ رقم از کلکسیون درختان میوه کمال آباد

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]

جدول ۱- اسامی ارقام و ژنوتیپ‌های سیب مورد استفاده در این پژوهش

ژنوتیپ‌های گوشت قرمز(همگی پوست قرمز)			
ژنوتیپ	منشا	ژنوتیپ	منشا
حاجی قرمز	تهران	B.9	روسیه
گوشت قرمز	تهران	قزوین- ۱	قزوین
شاهرود۱۰	شاهرود	قزوین-۲	قزوین
عروس گوشت قرمز	تهران	قزوین- ۳	قزوین
ارقام ایرانی			
رقم	منشا	رقم	منشا
شفیعی	ناشناخته	گلاب صحنه	کرمانشاه
گلاب کهنز	شهریار	حیدر زاده	مشهد
سلطانی شبستر	آذربایجان	شفیع‌آبادی	کرج
ارقام خارجی			
رقم	منشا	رقم	منشا
جاناتان	نیویورک-آمریکا	فوجی	ژاپن
گلدن دلیشز	ویرجینیا- آمریکا	رد دلیشز	آمریکا
گرانی اسمیت	استرالیا	گالا	نیوزیلند

وابسته به موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و سه ژنوتیپ از قزوین انتخاب شد. انتخاب ارقام براساس ویژگی‌های مناسب مورد نظر آنها برای این تحقیق صورت گرفت. برگ‌های جوان سرشاخه‌ها انتخاب و بلافاصله در ازت مایع منجمد شد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

بررسی نشانگرهای ریزماهواره

در این تحقیق از ۷ آغازگر ریزماهواره معرفی شده سیب که تعدادی از آنها برای بررسی لینکاژ با رنگ قرمز معرفی شده بودند و میزان چندشکلی بالایی نشان دادند، استفاده شد (جدول۲) (Chagne al. 2007 et). استخراج DNA ژنومی به روش دویل و دویل صورت گرفت (Doyle and Doyle 1987). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر هر یک از ۷ نشانگر ریزماهواره سیب در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل بافر ۱۰x dNTPs (۱۰ میلی مولار)، $MgCl_2$ (۴۰ میلی‌مولار)، آغازگر (۵ میکرومولار) و ۰/۱ واحد از آنزیم تک پلیمراز (سیناژن) انجام شد. برنامه تکثیر ریزماهواره‌ها به صورت یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۳ دقیقه آغاز شد و سپس ۳۰ چرخه شامل واسرشته سازی ثانویه در دمای ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها به رشته DNA به مدت ۳۰ ثانیه و تکثیر قطعات در دمای ۷۲°C به مدت یک دقیقه ادامه یافت. در انتها یک چرخه تکثیر نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دمای ۴°C نگهداری شدند. الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد صورت گرفت و سپس رنگ آمیزی با نیترات نقره انجام شد. هر باند SSR نشان دهنده یک الل است که به صورت صفر (نبود باند) و یک (وجود باند) نمره‌دهی شدند. پارامترهای مربوط به جمعیت شامل تعداد آلل مشاهده شده و موثر، هموزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار توسط نرم افزار POPGEN v1.32 اندازه‌گیری شد. برای رسم دندروگرام از نرم‌افزار NTSYS V2.02 و بر اساس ضریب دایس و الگوریتم UPGMA استفاده شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]

جدول۲- تعداد و توالی آغازگرهای استفاده شده در این تحقیق.

توالی آغازگر (′۳ - ′۵)	نام آغازگر	منبع
F: CAACTCCCCTTATTCTTCTTCTCTC R: CACCTGACCTTCTCTCTACCTCTAC	MdBHLH3	(Espley et al. 2009)
F: CTCGGCAATCGGTAAAGCTA R: TATGAACAGTGAAACCCTAACCCT	MdMYB12	(Espley et al. 2009)
F: GGCACAAGCACAAGGAAACA R:GTTTGAGCCAGTCCATTTTTCCCTAT	NZmsPa18	(Espley et al. 2009)
F: TCGATGAACAAGGCCCAAAG R: GTTTAGGGGGACGGAAGGAACAAG	NZmsPa113	(Espley et al. 2009)
F: CCTCAACAAATATAAGACTCTCTC R: GTTTCTCCACTCTGTCCGTACATT	NZmsPa136	(Espley et al. 2009)
F: AAAACCCAACACCACAGC R: GCTTCTTTGGATTCTGGATG	NZmsPa145	(Espley et al. 2009)
F: CAACCTTTCTCTCATTCACTC R: GTTTCCTTTTATGTACCGGCTT	NZmsPa1213rd	(Espley et al. 2009)

تکثیر ناحیه تکراری ژن *MdMYB10b*

مقدار *ng* ۱۲۰ از DNA ژنومی برای واکنش PCR استفاده شد. برای تکثیر ناحیه تکراری ژن *MdMYB10b* (شماره دسترسی AB592747.1) از یک جفت آغازگر اختصاصی (F; 5′- AGCAGCGAAAGCATGATAAAGGTATCT و R; 5′- AAGGCCAGTGACGTGCATGTCTG) واقع در دو طرف توالی تکراری استفاده شد. مخلوط PCR مطابق با مقادیر ذکر شده برای نشانگر ریزماهواره بود. واکنش PCR با دمای ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه آغاز و در ۳۵ چرخه (۹۴°C به مدت ۴۵ ثانیه، ۶۰°C به مدت ۴۰ ثانیه، ۷۲°C به مدت ۴۰ ثانیه) انجام شد و در نهایت در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. محصولات PCR بر روی ژل آگارز یک درصد بارگذاری و با اتیدیوم بروماید رنگ-آمیزی شد. در نهایت مورد توالی‌یابی قرار گرفت. بررسی تنوع ناحیه تکراری در تمامی ژنوتیپ‌های گوشت قرمز و سفید انجام شد.

نتایج و بحث

به منظور بررسی میزان خویشاوندی ژنوتیپ‌های سیب قرمز بومی با برخی از ارقام تجاری گوشت سفید داخلی و خارجی، ۲۰ ژنوتیپ انتخاب و با استفاده از ۷ جفت آغازگر SSR مورد ارزیابی قرار گرفت. این آغازگرها توانستند تکثیر خوبی در همه ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه داشته باشند و در مجموع ۵۶ آلل را شناسایی کردند (شکل۱). در جدول ۳ اطلاعات مربوط به چندشکلی آلل‌ها نشان داده شده است. بیشترین تعداد آلل مشاهده شده ۱۱ عدد و مربوط به آغازگرهای NZmsPa113 و MdBHLH3 و کمترین تعداد آلل مشاهده شده ۳ عدد و مربوط به آغازگر NZmsPa145 بود. میانگین تعداد آلل مشاهده شده، ۸ آلل در هر مکان ژنی بود که با تحقیقات قبلی شامل ۴/۵ آلل در هر مکان ژنی در ۲۱ رقم سیب (Guilford et al. 1997)، ۸/۲ آلل در هر مکان ژنی در ۱۹ رقم سیب با استفاده از ۱۶ آغازگر SSR (Hokanson et al. 1998)، ۶/۵ آلل در هر مکان ژنی در ۴۱ ژنوتیپ سیب با استفاده از ۱۳ آغازگر SSR (Harris et al. 2002)، ۹/۲ آلل در هر مکان ژنی در ۶۶ رقم سیب با استفاده از ۶ آغازگر (Galli et al. 2005)، ۱۰/۹ آلل در هر مکان ژنی در ۴۴ ژنوتیپ سیب با استفاده از ۹ آغازگر SSR (Cavanna et al. 2008) و ۱۴/۷ آلل در هر مکان ژنی در ۹۴۹ کولتیوار سیب با استفاده از ۷ آغازگر SSR مطابقت داشت (Richards et al. 2009). بیشترین تعداد آلل موثر، ۱۰/۲۵ برای آغازگر MdBHLH3 و کمترین تعداد آلل موثر ۲/۰۶ برای آغازگر NZmsPa145 بود و میانگین تعداد آلل موثر ۵/۷۴ در هر مکان ژنی محاسبه شد (جدول۳).

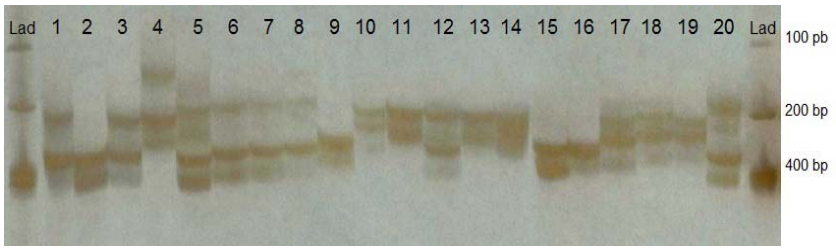
بیشترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برابر با یک برای آغازگر

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]

جدول ۳- پارامترهای چندشکلی مربوط به هر یک از آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده در این پژوهش

نام آغازگر	تعداد الل	تعداد الل موثر	ضریب شانون	هتروزیگوسیتی قابل مشاهده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار
MdBHLH3	۱۱	۱۰ /۲۵	۲/۳۵	۰/۵۵	۰/۹۲
MdMYB12	۵	۲/۱۲	۱/۰۳	۰/۲۵	۰/۵۴
NZmsPa18	۸	۶/۱۰	/۹۲	۰/۹۰	۰/۸۵
NZmsPa113	۱۱	۷/۵۴	۲/۱۵	۰/۷۵	۰/۸۸
NZmsPa136	۸	۵/۴۴	۱/۸۴	۰/۳۰	۰/۸۳
NZmsPa145	۳	۲/۰۶	/۸۸	۰/۴۵	۰/۵۲
NZmsPa1213rd	۱۰	۶/۶۶	۲/۰۷	۱/۰۰	۰/۸۷
میانگین	۸	۵/۷۴	۱/۷۵	/۶	/۷۷



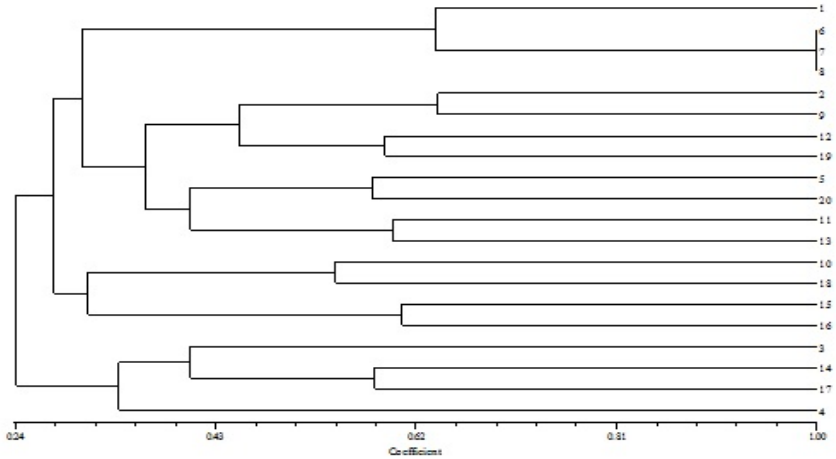
شکل ۱- آغازگر MdBHLH3 با ۱۱ الل- ژنوتیپ‌ها بترتیب شامل ۱) حاجی قرمز؛ ۲) گوشت قرمز؛ ۳) شاهرود-۱۰؛ ۴) عروس گوشت قرمز؛ ۵) B.9؛ ۶) قزوین-۱؛ ۷) قزوین-۲؛ ۸) قزوین-۳؛ ۹) شفیعی؛ ۱۰) گلاب کهنز؛ ۱۱) جاناتان؛ ۱۲) گلدن دلیشز؛ ۱۳) گرانی اسمیت؛ ۱۴) سلطانی شبستر؛ ۱۵) فوجی؛ ۱۶) رد دلیشز؛ ۱۷) حیدرزاده؛ ۱۸) گلاب صحنه؛ ۱۹) گالا؛ ۲۰) شفیع آبادی. چاهک اول و آخر مربوط به ladder است که سه باند ۱۰۰ bp، ۲۰۰ bp و ۴۰۰ bp مشخص است.

NZmsPa1213 و کمترین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برابر با ۰/۲۵ برای آغازگر MdMYB12 و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برابر با ۰/۶ بود (جدول۳). بیشترین هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۹۲ برای آغازگر MdBHLH3 و کمترین هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۵۲ برای آغازگر NZmsPa145 و میانگین هتروزیگوسیتی قابل انتظار ۰/۷۷ بود. بیشترین مقدار شاخص شانون برابر با ۲/۳۵ و مربوط به آغازگر MdBHLH3، کمترین مقدار برابر با ۰/۸۸ و مربوط به آغازگر NZmsPa145 و میانگین آن برابر با ۱/۷۵ بود (جدول۳).

تجزیه خوشه‌ای بین افراد با استفاده از ضریب تشابه دایس به عنوان معیار مقایسه و روش UPGMA انجام گرفت و نتایج حاصل به صورت دندروگرام (شکل۲) ترسیم شد. بر اساس دندروگرام ترسیم شده، ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در ۷ گروه به ترتیب زیر قرار گرفتند.

گروه اول شامل حاجی‌قرمز، قزوین-۱، قزوین-۲ و قزوین-۳ بود. خصوصیات مورفولوژیک درخت و میوه و نیز منشا جغرافیایی ژنوتیپ‌های قزوین یکسان بود. به نظر می‌رسد که هر سه از طریق تکثیر رویشی ازدیاد یافته‌اند به همین علت تفاوت ژنتیکی نشان ندادند. در گروه دوم، گوشت قرمز، شفیعی، گلدن دلیشز و گالا قرار گرفت که گوشت قرمز و شفیعی جز ارقام ایرانی و گلدن دلیشز و گالا جز ارقام خارجی هستند که موید تکثیر این ژنوتیپ-ها از طریق رویشی می باشد. در گروه سوم یک ژنوتیپ گوشت قرمز B.9 و سه ژنوتیپ گوشت سفید شفیع آبادی، جاناتان و گرانی اسمیت قرار دارد. از آنجا که نواحی ژنومی حاوی ریزماهواره‌ها غالبا کنترل کننده صفات نمی‌باشند به این مفهوم که در نواحی کدکننده ژنوم قرار ندارند و نیز تعداد معدودی از آنها در این تحقیق استفاده شد، آغازگرهای فوق نتوانستند در تفکیک صفت قرمزی گوشت میوه سیب موثر واقع شوند. دو ژنوتیپ بومی گوشت سفید شامل گلاب صحنه و گلاب کهنز نیز در یک گروه قرار گرفتند که از لحاظ مورفولوژیکی نیز به یکدیگر شبیه هستند. در گروه پنجم، فوجی و رد دلیشز قرار گرفتند که به خاطر والد بودن رد دلیشز برای فوجی، منطقی به نظر می‌رسد (سیب

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]



شکل۲- دندروگرام ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه بر اساس الگوهای باندی SSR با استفاده از ضریب تشابه دایس و روش UPGMA. ژنوتیپ‌ها شامل ۱) حاجی قرمز؛ ۲) گوشت قرمز؛ ۳) شاهرود-۱۰؛ ۴) عروس گوشت قرمز؛ ۵) B.9، ۶) قزوین-۱؛ ۷) قزوین-۲؛ ۸) قزوین-۳؛ ۹) شفیعی؛ ۱۰) گلاب کهنز؛ ۱۱) جاناتان؛ ۱۲) گلدن دلیشز؛ ۱۳) گرانی اسمیت؛ ۱۴) سلطانی شبستر؛ ۱۵) فوجی؛ ۱۶) رد دلیشز؛ ۱۷) حیدر زاده؛ ۱۸) گلاب صحنه؛ ۱۹) گالا؛ ۲۰) شفیع آبادی.

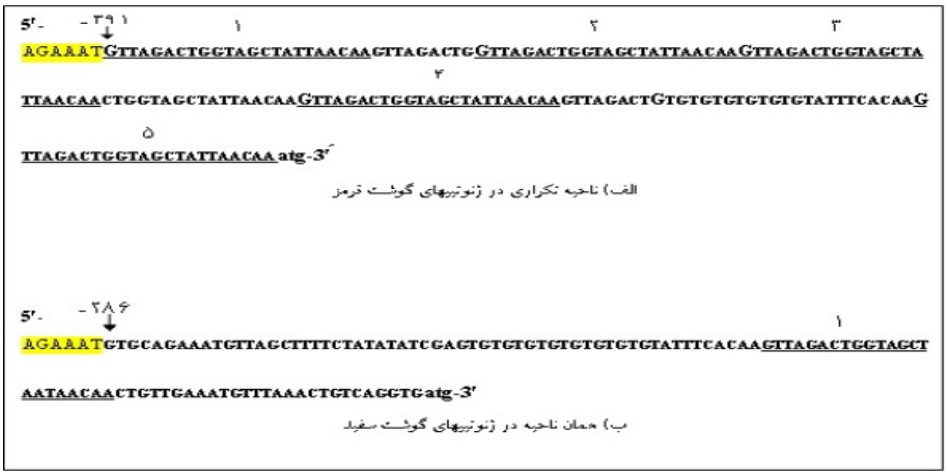
فوجی یک رقم هیبریدی معرفی شده در ژاپن است که از تلاقی دو رقم آمریکایی 'Red Delicious' و 'Virginia Ralls Genet' بدست آمده است). در گروه ششم، سه ژنوتیپ بومی شاهرود-۱۰، سلطانی شبستر و حیدرزاده وجود دارد که شاهرود-۱۰ جز سیب‌های گوشت قرمز ایرانی است و در گروه آخر عروس گوشت قرمز قرار گرفت.

همانطور که در شکل۲ دیده می‌شود ژنوتیپ‌های گوشت قرمز تنوع ژنتیکی بالایی را نشان می‌دهد. ارقام گوشت قرمز ایرانی در گروه‌های متفاوت قرار گرفتند چرا که خصوصیات ظاهری آنها هم تا حدی متفاوت می باشد و این به علت وجود تنوع ژنتیکی بالا در این ارقام بود. بیشترین تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های قزوین و کمترین تشابه بین ژنوتیپ گوشت قرمز و عروس گوشت قرمز (۰/۰۸) بود. ژنوتیپ‌های گوشت قرمز در میان ارقام گوشت سفید گروه‌بندی شده است. با توجه به گروه‌بندی نمی-توان میان ژنوتیپ‌های گوشت قرمز با ژنوتیپ‌های گوشت سفید تفاوت معناداری از لحاظ ژنتیکی مشاهده کرد که بر آن اساس آن دو دسته را از دو منشا متفاوت در نظر گرفت. بنابراین با توجه به خوداناسازگاری سیب می‌توان استنباط کرد که تلاقی ژنوتیپ‌های گوشت قرمز (حامل ژن *MdMYB10*) با ژنوتیپ‌های گوشت سفید منجر به تولید ارقامی شده است (اعم از گوشت سفید و گوشت قرمز) که از لحاظ ژنتیکی نزدیک است و بدین وسیله ژن مسئول رنگ قرمز در میان ارقام مختلف از نواحی متفاوت انتقال یافته است. همچنین بر اساس دندروگرام، ارتباطی میان گروه‌بندی و منشا جغرافیایی مشاهده نشد و بنابراین ژنوتیپ‌های مربوط به مناطق یکسان در گروه‌های متفاوت قرار گرفتند (شکل۲). مطابق با نتایج گروهبندی، ارقام و ژنوتیپ های ایرانی و ارقام خارجی در بعضی از کلاسترها بطور مشترک قرار گرفتند (شکل۲) که نشان داد بعضی از ارقام خارجی ارتباط خویشاوندی نزدیکی با ارقام و ژنوتیپ‌های بومی (ایرانی) دارند. همچنین بر اساس نتایج گروهبندی (شکل ۲)، ارتباطی میان کلاسترهای ارقام و ایرانی یا خارجی بودن سیب‌ها مشاهده نشد و بنابراین ژنوتیپ‌های مربوط به مناطق یکسان در گروه‌های متفاوت قرار گرفتند.

از آنجا که علت تفاوت رنگ گوشت در سیب مربوط به توالی متفاوت ناحیه راه‌انداز ژن *MYB10b* است (Espley et al. 2009) لذا جهت بررسی و یافتن هرگونه پلی‌مورفیسم بیشتر در این ناحیه در میان ژنوتیپ‌های گوشت قرمز و گوشت سفید، راه‌انداز این ژن با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در ژنوتیپ های گوشت قرمز و گوشت سفید مورد مطالعه که مربوط به اقلیم‌های متفاوت نیز بودند (جدول۱)، تکثیر و توالی آن مورد بررسی قرار داده شد. بدلیل اینکه اغلب ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، بومی ایران است لذا احتمال یافتن نواحی تکراری دیگر (که در گزارشات گذشته کشف نشده است) وجود داشت بنابراین هدف از این کار یافتن

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]

تنوع بیشتر ناحیه بالادست ژن عامل رنگ قرمز (*MYB10b*) بود. در این بررسی یک ناحیه تکراری حاوی ۵ توالی تکراری bp ۲۳ (ناحیه ۲۱۹- تا ۳۹۱- از کدون آغاز) در تمام ژنوتیپ‌های گوشت قرمز مشاهده شد در حالیکه ژنوتیپ‌های گوشت سفید فاقد این ناحیه تکراری می‌باشد (شکل ۳). این نتایج نشان می‌دهد که این توالی تکراری برای ایجاد رنگ قرمز گوشت ضروری است. بعبارت دیگر فنوتیپ گوشت قرمز با توالی تکراری ارتباط دارد. با بررسی ملکولی تعدادی از ژنوتیپ‌های گوشت قرمز وجود این پنج توالی تکراری و ارتباط مستقیم این ناحیه تکراری با فنوتیپ گوشت قرمز گزارش شد (Espley et al. 2009). نتایج پژوهش حاضر نیز با مطالعه فوق مطابقت دارد. لازم به ذکر است که یک توالی میکروساتلیتی نیز در همه ژنوتیپ‌ها دیده شد که میان گوشت قرمز و سفید مشترک بود و در بخش مارکر SSR مورد بررسی قرار گرفته است (آغازگر MdMYB12). با توجه به تنوع شدت و الگوی رنگ قرمز در میان ژنوتیپ‌های گوشت قرمز مختلف تصور می‌شد که این تنوع رنگ، با این ناحیه تکراری ۵ تکراره ارتباط دارد. نتایج توالی‌یابی نشان داد که هیچگونه تنوعی در ناحیه تکراری میان ژنوتیپ‌های قرمز از نظر توالی و تعداد تکرارهای ۲۳تایی وجود ندارد. بنابراین تنوع رنگی گوشت میوه احتمالا مستقل از ناحیه تکراری است اما همچنان فنوتیپ قرمز تابع وجود ناحیه تکراری است. بنظر می‌رسد که این تنوع رنگی تابع محیط و ژن‌های دیگر باشد. تعداد و توالی یکسان واحدهای تکراری در همه ژنوتیپ‌های مورد استفاده، در کنار نتایج مطالعه Espley et al. (2009) پیشنهاد می‌کند که احتمالا موتاسیون (بوجود آمدن توالی تکراری) در بالادست ژن *MYB10* تنها یکبار در طول تکامل صورت گرفته است. همچنین بنظر می‌رسد این موتاسیون ناگهانی در یک والد اولیه اتفاق افتاده که توسط فرایند انتخاب انتشاریافته و به نسل‌های بعدی منتقل شده و در نهایت این ارقام در سطح جهان منتشر شده‌است. بنابراین ممکن است که ارقام گوشت قرمز در نقاط مختلف جهان از یک جد مشترک تکامل‌یافته و این موتاسیون هیچگاه در طول تکامل تغییر نکرده‌است. ذکر این نکته ضروری است که در این زمینه نمی‌توان از نتایج SSR این مطالعه بهره‌گرفت زیرا از منظر تکاملی و فیلوژنی صورت نگرفته و تنها به بررسی تنوع ژنوتیپ‌ها پرداخته‌است. بنابراین به سختی می‌توان در مورد موتاسیون بوجودآمده اظهارنظر قطعی کرد و نیاز به پژوهش‌های تکاملی جهت شفافیت بیشتر ضروری به نظر می‌رسد.



شکل ۳- موقعیت وتوالی ناحیه تکراری واقع در بالادست ژن *MdMYB10b*. الف) اولین واحد ۲۳ جفت بازی تکراری در bp ۲۲۰ بالادست توالی آغازی قرار دارد که در ادامه ۴ واحد تکراری دیگر نیز قرار دارد؛ ب) در ژنوتیپ گوشت سفید تنها یک واحد تکراری قرار دارد. دو توالی همپوشانی ۲۶/۷ درصدی دارند. اعداد ۱ تا ۵ نشان‌دهنده واحدهای تکراری است. ۳۹۱ – و ۲۸۶ – تعداد نوکلئوتیدهای بالادست کدون آغاز می‌باشد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]

منابع

Allan AC, Hallens RP Lainge AW (2008) Myb transcription factors that colour our fruit. Trends in Plant Science 13: 99-102.

Ban Y, Honda C, Hatsuyama Y, Igarashi M, Bessho H, Morigushi T (2007) Isolation and functional analysis of a MYB transcription factor gene that is a key regulator for the development of red coloration in apple skin. Plant Cell Physiology 48: 958-970.

Cavanna M, Marinoni T, Beccaro G, Bounous G (2008) Microsatellite-based evaluation of Ribes spp. germplasm. Genome 52: 839-848.

Chagne D, Carlisle CM, Blond C, Volz R, Witworth CJ, Oraguzie NC, Crowhurst RN, Allan AC, Espley RV, Hellens RP, Gardiner S (2007) Mapping a candidate gene (*MdMYB10*) for red flesh and foliage colour in apple. BMC Genomics 8: 212-220.

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19: 11-15.

Ershadi A (2002) Genetic evaluation of 32 Iranian apple cultivars (M× domestica) with using SSR markers. Dissertation, Tehran University, Iran.

Espley RV, Brendolise C, Chagne D, Kutti-Amma S, Green S, Volz R, Putteril J, Schouten HJ, Gardiner SE, Hellens RP, Allan AC (2009) Multiple repeats of a promoter segment causes transcription factor autoregulation in red apples. Plant Cell 21: 168-180.

Espley RV, Hellens RP, Putterill J, Stivenson DE, Kutti-Amma S, Allan AC (2007) Red colouration in apple fruit is due to the activity of the MYB transcription factor MdMYB10. Plant Journal 49: 414 - 427.

Faramarzi S (2011) Study of morphological traits and genetic diversity among Iranian red flesh apples using microsatellite markers. Dissertation, Tarbiat Modares University, Iran.

Farrokhi J, Naseri L (2012) Genetic diversity survey of Iranian native apples (malus× domestica) genotypes using ssr markers. Agricultural Biotechnology 2: 27-34.

Gábor H, Kiss E, Heszky L (2005) Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. Hortural Science Journal 7: 40-45.

Gahromee SR , Keshavarzi M, Naghavi MR, Damyar S, Zahravee M (2009). Molecular identification of apple cultivars/rootstocks using SSR markers. Agricultural Biotechnology 1: 17-26.

Galli A, Svegliati-Baroni G, Ceni E, Milani S, Ridolfi F, Salzano R, Tarocchi M, Grappone C, Pellegrini G, Benedetti A (2005) Oxidative stress stimulates proliferation and invasiveness of hepatic stellate cells via a MMP2-mediated mechanism. Hepatology 41: 1074-1084.

Gharghani A, Zamani Z, Talaie A, Oraguzie NC, Fatahi R, Hajnajari H, Wiedow C, Gardiner SE (2009) Genetic identity and relationships of Iranian apple (Malus× domestica) cultivars and landraces, wild Malus species and representative old apple cultivars based on simple sequence repeats (SSR) marker analysis. Genetic Resources and Crop Evolution 13:1-14.

Gianfranceschi L, Seglias N, Tarchini R, Komjanc M, Gessler C (1998) Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. Theoretical and Applied Genetics 96: 1069-1076.

Gianfranceschi L, Seglias N, Tarchini R, Komjanc M, Gessler C (1998) SSRs for the genetic analysis of apple. Theoretical and Applied Genetics 96: 1069-1076.

Goulao L, Oliveira CM (2001) Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. Euphytica 122: 81-89.

Guilford P, Prakash S, Zhu JM, Rikkerink E, Gardiner S, Bassett H, Forster R (1997) Microsatellites in Malus domestica (Apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. Theoretical and Applied Genetics 94: 249-254.

Harris SA, Robinson JP, Juniper BE (2002) Genetic clues to the origin of the apple. Trends in Genetics 18: 426-430.

Hokanson SC, Lamboy WF, McFadden AK, McFerson JR (2001) Microsatellite (SSR) variation in a collection of Malus (apple) species and hybrids. Euphytica 118:281-294.

Hokanson SC, Szewc-McFadden AK, Lamboy WF, McFerson JR (1998) Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a Malus×domestica borkh. core subset collection TAG Theoretical and Applied Genetics 97: 671-683.

Konczak I, Zhang W (2004) Anthocyanins-more than nature´ s colours. Journal of Biomedicine and Biotechnology 5: 239-240.

Nagshin F, Bahari M, Seyyed tabatabaie BA, Hajnajari H (2008) Genetic evaluation of some Iranian apple genotypes (sibe golab) using SSR markers. Horticulture Science and Technology Journal 9: 69-82.

Richards CM,Volk GM, Reilley AA, Henk AD, Lockwood DR, Reeves PA, Forsline PL (2009) Genetic diversity and population structure in Malus sieversii, a wild progenitor species of domesticated apple. Tree Genetics and Genomes 5: 339-347.

Silfverberg-Dilworth E, Matasci CL, Van de Weg WE, Van Kaauwen MPW, Walser M, Kodde LP, Soglio V, Gianfranceschi L, Durel CE, Costa F, Koller TB, Gessler C, Patocchi A (2006) Microsatellite markers spanning the apple (Malus x domestica Borkh.) genome. Tree Genetics and Genomes 2: 202-224.

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

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.2.3.4]