



بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های محلی انبه (*Mangifera indica* L.) استان هرمزگان با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و نشانگر ISSR

عبدالنبی باقری^{*۱} - حامد حسن‌زاده خانکهدانی^۲ - وجیهه قنبری^۳ - مجید عسکری سیاهویی^۴ - سید سعید مدرس نجف‌آبادی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۳/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۱۴

چکیده

بررسی تنوع ژنتیکی انبه موجب افزایش شناخت نسبت به این گیاه شده و امکان انتخاب ژنوتیپ‌های مرغوب‌تر جهت توسعه کشت و کار آن فراهم می‌نماید. در این پژوهش، تنوع ژنتیکی و ریخت‌شناسی ۳۹ ژنوتیپ انبه جمع‌آوری شده از شهرستان‌های میناب و رودان (استان هرمزگان) با استفاده از نشانگرهای ISSR و صفات ریخت‌شناسی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر مبنای داده‌های ریخت‌شناسی، ژنوتیپ‌ها به هشت گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند. دامنه تشابه به‌دست‌آمده برای داده‌های ریخت‌شناسی از ۰/۱۲ تا ۰/۸۳ متفاوت بود. حداقل میزان تشابه بین ژنوتیپ‌های آل‌مهتری و چارک دیده شد و حداکثر تشابه بین مشک، آناناسی گلشوار، نغال و هلیلی گلشوار بود. متوسط میزان تشابه به‌دست آمده نیز ۰/۵۴ بود. نتایج تجزیه ۲۱ ویژگی ریخت‌شناسی در ژنوتیپ‌های انبه مورد مطالعه نشان داد که این ژنوتیپ‌ها از نظر همه صفات (به‌جز تراکم گل و شکل گل‌آذین) دارای اختلاف معنی‌دار بودند. نتایج نشانگرهای ISSR نشان داد که آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش، در مجموع ۱۴۵ نوار قابل امتیازدهی تولید کردند. حداکثر و حداقل تعداد نوار چندشکل به‌ترتیب در آغازگرهای MI808 (۲۰ نوار) و MI827 (۶ نوار) مشاهده شد. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی برابر ۰/۴۵۰ بود. دامنه تشابه به‌دست آمده برای داده‌های مولکولی در ماتریس تشابه محاسبه شده از ۰/۳۱ تا ۰/۹۰ متفاوت بود که در آن، حداقل میزان تشابه بین ژنوتیپ‌های مجلسی و چارک و حداکثر تشابه بین گیلای و کلانفر بازاری دیده شد. تنوع بالای مشاهده شده بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش، علاوه بر وجود تفاوت‌های ذاتی آن‌ها، می‌تواند ناشی از تکثیر بذری این ژنوتیپ‌ها باشد.

واژه‌های کلیدی: انگشت‌نگاری، نشانگر مورفولوژیک، نشانگر مولکولی، PIC

مقدمه

جنس انبه دارای ۶۲ گونه است که عمده ارقام خوراکی آن به گونه *M. indica* تعلق دارند. انبه شامل دو نژاد، یکی هندی و دیگری فیلیپینی است. نوع هندی دارای جوانه‌های قرمز روشن و نوع فیلیپینی دارای جوانه‌های سبز کم‌رنگ یا قرمز است (۵).

بررسی تنوع ژنتیکی انبه، موجب افزایش شناخت نسبت به این گیاه شده و امکان انتخاب ژنوتیپ‌های مرغوب‌تر را برای توسعه کشت و کار آن و فعالیت‌های تحقیقاتی بعدی فراهم می‌نماید. سطح بالای تنوع مشاهده‌شده در ژنوتیپ‌های بومی در ایران می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی برای تولید ارقام بهتر و استفاده از این ارقام به‌عنوان والد بخشنده برای انتقال صفات مطلوب به ارقام پرمحصول مورد استفاده قرار گیرد. تولید و توسعه کشت انبه به دلیل کمبود ارقام مرغوب (بیشتر به دلیل موانع موجود بر سر راه به‌نژادی معمولی)، با محدودیت‌هایی مواجه شده است. از جمله مشکلات موجود در به‌نژادی معمولی انبه می‌توان به چندروایی حاصل از رویان‌زایی بافت خورشی، درصد تشکیل بذر و میوه کم، هتروزیگوسیتی، ریزش زیاد میوه، پیچیده‌بودن طبیعت گل‌ها، نیاز به باغ با مساحت زیاد برای

انبه (*Mangifera indica* L.) یک گونه مهم از خانواده Anacardiaceae و یک محصول مهم تجاری در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری دنیا است (۳۵). رسیدن تولید جهانی انبه به نزدیک ۴۶/۵ میلیون تن در سال ۲۰۱۶ آن را به یکی از پنج محصول باغی مهم جهانی (بعد از موز، پرتقال، انگور و سیب) تبدیل کرده است (۸).

۱، ۴ و ۵ - به ترتیب استادیاران بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران
۲ - محقق بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

۳ - دانش‌آموخته کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت
(Email: nabibagheri53@gmail.com) * - نویسنده مسئول

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i1.72766

ارزیابی دورگه‌ها و دوره طولانی نونهالی اشاره کرد (۲۹).

اهداف به‌نژادی انبه شامل بهبود اندازه و شکل میوه، افزایش کیفیت انباری، مقاومت به بیماری‌های قارچی آنتراکنوز و سفیدک پودری (۲۹) و بالابردن میزان ماندگاری (۲۱)، مقاومت به خشکی، رسیدن به تاج متراکم درخت، پاکوتاهی و حل مشکل باردهی نامنظم آن می‌باشد. مشکلاتی که برای افزایش تولید و گسترش سطح زیر کشت انبه در منطقه وجود دارد، بیشتر مربوط به مقاومت درختان به تنش‌های زیستی مانند آفات و بیماری‌ها و غیرزیستی مانند شوری آب و خاک و خشکی می‌باشد. شناسایی ارقام مناسب برای تهیه پایه و پیوندک و ارقام مقاوم به انواع بیماری‌ها و ارقامی با تولید محصول زیاد (با توجه به سال‌آوری انبه) می‌تواند با شناخت بهتر پتانسیل ژرمپلاسم‌های موجود انجام گیرد (۵). استفاده از نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای بسیار مهم و قوی در این زمینه می‌باشد که در ارزیابی روابط خویشاوندی و بررسی شباهت‌ها یا تفاوت‌ها بین نمونه‌های مختلف کاربرد دارد. همچنین استفاده از این نشانگرها در مدیریت ژرمپلاسم و گزینش براساس نشانگر، برای افزایش کارایی اصلاح و تکثیر ژرمپلاسم مفید می‌باشد. به‌علاوه، یکی از پایه‌های اساسی اصلاح نباتات دسترسی و آگاهی از میزان تنوع در مراحل مختلف پروژه‌های اصلاحی است که نشانگرهای مولکولی توانایی برآورد مناسبی از فواصل ژنتیکی بین وارته‌های مختلف را دارا می‌باشند. در بین انواع نشانگرهای مولکولی موجود، نشانگرهای ISSR به‌طور خاصی مورد توجه قرار گرفته و کاربردی شده‌اند (۲۸).

کاربرد نشانگرهای ISSR با توجه به ماهیت آن که نیازی به شناخت ساختار ژنتیکی گیاهان مورد مطالعه نیست، به‌صرفه بوده و از این نظر بر نشانگر SSR ارجحیت دارد. تاکنون نشانگرهای مختلفی برای بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انبه مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به بکارگیری نشانگرهای RAPD برای بررسی تحمل در ژنوتیپ‌های جهش‌یافته حاصل از کشت تک‌رویی انبه‌های هیندی و کارابائو به سمیت قارچ (*Colletotrichum gloeosporoides*) (۱۶)، تنوع ژنتیکی در ۵۰ ژنوتیپ تجاری انبه با استفاده از نشانگرهای RAPD (۱) و بررسی تنوع ژنتیکی انبه با استفاده از نشانگرهای ISSR (۱۱) اشاره کرد. در یک پژوهش تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های انبه در منطقه جیر در گجرات هندوستان با استفاده از ۲۱ نشانگر ISSR بررسی و تنوع بالایی مشاهده شد (۳۸).

در دو دهه گذشته در جنوب ایران، روند تولید درختان پیوندی انبه با کشت بذور و پیوند ارقام مناسب (چه ثبت‌شده نظیر سندری و لانگرا و چه ثبت‌نشده) روی آن‌ها سرعت بیشتری گرفته است. لذا بررسی تنوع ژرم پلاسم‌های انبه موجود در این مناطق می‌تواند نقشه راه مناسبی در شناسایی و تفکیک این ژنوتیپ‌ها باشد. در پژوهش حاضر ژنوتیپ‌های بومی مناطق میناب و رودان (استان هرمزگان) که عمدتاً از طریق بذر به‌وجود آمده‌اند و به‌مرور زمان براساس کیفیت و

دائمه‌پسندی تکثیر رویشی یافته‌اند، جمع‌آوری و تنوع آن‌ها توسط صفات ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی بررسی شد. این ژنوتیپ‌ها در مناطق مختلف، نام‌گذاری‌های خاصی داشته و این احتمال وجود دارد که دو نام متفاوت از نظر ژنتیکی، یک ژنوتیپ بوده و یا حتی دو نام یکسان تفاوت‌های فاحشی داشته باشند.

هدف این پژوهش، بررسی تنوع ژنتیکی و ریخت‌شناسی ۳۹ ژنوتیپ انبه جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف استان هرمزگان با استفاده از نشانگرهای ISSR و صفات ریخت‌شناسی بود. به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر خصوصیات رشدی و تحمل به تنش‌های محیطی از جمله شوری در درجات مختلفی از مقاومت قرار داشته و احتمالاً گروه‌بندی ژنتیکی این ژنوتیپ‌ها بتواند گروه‌هایی ایجاد کند که تا حدودی از نظر مقاومت یا تحمل به تنش‌ها، شباهت‌هایی باهم داشته باشند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری ژنوتیپ‌های گیاهی برای استخراج DNA

نمونه‌ها از سرشاخه‌های جوان ۳۹ ژنوتیپ بالغ انبه بدون علائم ظاهری ناشی از عوامل بیماری‌زا و فیزیولوژیک از مناطق مختلف استان هرمزگان شامل میناب (حکمی، راونگ و هشت‌بندی)، رودان (کمیز) و ایستگاه تحقیقات کشاورزی میناب جمع‌آوری (جدول ۱) و به آزمایشگاه مولکولی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان منتقل شدند و تا زمان استخراج DNA در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نام‌گذاری ژنوتیپ‌ها در پژوهش حاضر براساس نام محلی که در مناطق مذکور به‌کار می‌رود، صورت گرفته است.

بررسی‌های ریخت‌شناسی

ارزیابی صفات و ویژگی‌های ریخت‌شناسی مورد نظر براساس توصیف‌نامه موجود برای انبه (۱۵) انجام شد. در این رابطه عادات رشدی درخت و خصوصیات برگ، میوه (در زمان رسیدن میوه) و گل‌آذین ارزیابی شد (جدول ۲).

بررسی‌های ژنتیکی

برای استخراج DNA از روش تغییریافته CTAB (۶) استفاده شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده به‌ترتیب با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و استفاده از دستگاه نانودراپ ساخت شرکت ایندروف آلمان تعیین شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت Bio Rad آلمان انجام شد. برای انجام واکنش‌های PCR در حجم ۱۰ میکرولیتری، ۳ میکرولیتر DNA الگو با غلظت ۵۰ نانوگرم، ۰/۷ میکرولیتر آغازگر با

غلظت ۱۰ میکرومول، ۵ میکرولیتر مسترمیکس آمپلیکون شرکت سیناژن و ۱/۳ میکرولیتر آب مقطر استریل استفاده شد. شرایط تکثیر اولیه نیز به ترتیب زیر تنظیم شد:

جدول ۱- نام، کد و محل جمع‌آوری ژنوتیپ‌های انبه مورد مطالعه

Table 1- Name, code and collecting location of the studied mango genotypes

کد ژنوتیپ Genotype code	نام ژنوتیپ Genotype name	نام اختصاری Abbreviation name	محل جمع‌آوری Collecting location	کد ژنوتیپ Genotype code	نام ژنوتیپ Genotype name	نام اختصاری Abbreviation name	محل جمع‌آوری Collecting location
1	مشک	Moshk	میناب، احمدآباد	21	کد ۲۱	21	میناب، چلوگامیشی
2	چارک	Charak	میناب، احمدآباد	22	شاهانی	Shahani	رودان، کمیز
3	نغال	Noghal	میناب، احمدآباد	23	سیب	Sib	میناب، چلوگامیشی
4	هللی رودان	HalR	رودان، کمیز	24	هویج	Havij	میناب، چلوگامیشی
5	هللی دھوسطی	HalMD	میناب، دھوسطی	25	خیار گلشوار	KhiaRMG	میناب، گلشوار
6	هللی گلشوار	HalMG	میناب، گلشوار	26	خیار دھوسطی	KhiaRMD	میناب، دھوسطی
7	آناناسی گلشوار	AnaMG	میناب، گلشوار	27	کلانفر گلشوار	KalanMG	میناب، گلشوار
8	آناناسی چلوگامیشی	AnaMCh	میناب، چلوگامیشی	28	کلانفر بازیاری	KalanMB	میناب، بازیاری
9	شوزانبه گلشوار	ShozMG	میناب، گلشوار	29	گیلاسی	Gilasi	میناب، احمدآباد
10	شوزانبه دھوسطی	ShozMD	میناب، دھوسطی	30	محلی	Mahali	هشت‌بندی
11	میخک میناب	MikhM	میناب، چلوگامیشی	31	هندی	Hendi	هشت‌بندی
12	میخک رودان	MikhR	رودان، کمیز	32	خارجی	Khareji	هشت‌بندی
13	کد ۱۳	13	میناب، چلوگامیشی	33	سندری	Sendry	میناب، ایستگاه تحقیقات کشاورزی
14	کد ۱۴	14	میناب، چلوگامیشی	34	لانگرا	Langra	میناب، ایستگاه تحقیقات کشاورزی
15	کد ۱۵	15	میناب، چلوگامیشی	35	دودو	Dodo	میناب، ایستگاه تحقیقات کشاورزی
16	کد ۱۶	16	میناب، چلوگامیشی	36	انبه ۶ رودان	Mango6	رودان، کمیز
17	کد ۱۷	17	میناب، چلوگامیشی	37	انبه ۳ رودان	Mango3	رودان، کمیز
18	کد ۱۸	18	میناب، چلوگامیشی	38	کلانفر راونگ	KalanMRa	میناب، راونگ
19	کد ۱۹	19	میناب، چلوگامیشی	39	مجلسی	Majlesi	میناب، احمدآباد
20	آل مهتری	Almeh	میناب، دھوسطی				
	منطقه Location		عرض جغرافیایی (شمالی) Latitude (N)		طول جغرافیایی (شرقی) Longitude (E)		ارتفاع از سطح دریا (متر) Altitude (m)
	میناب، احمدآباد Minab, Ahmadabad		27° 10' 34''		57° 03' 44''		36
	میناب، دھوسطی Minab, Dehosta		27° 09' 36''		57° 01' 47''		32
	میناب، گلشوار Minab, Goleshvar		27° 08' 51''		57° 02' 20''		31
	میناب، چلوگامیشی Minab, Chelowgavmishi		27° 08' 15''		56° 59' 10''		18
	میناب، بازیاری Minab, Baziari		27° 10' 20''		57° 02' 20''		30
	میناب، راونگ Minab, Ravang		27° 03' 57''		57° 11' 44''		61
	هشت‌بندی Hashtbandi		27° 10' 00''		57° 27' 20''		251
	رودان، کمیز Rudan, Komiz		27° 23' 10''		57° 13' 27''		171
	میناب، ایستگاه تحقیقات کشاورزی Minab, Agricultural Research Station		27° 06' 39''		57° 05' 36''		27

جدول ۲- لیست صفات ریخت‌شناسی و نحوه توصیف برخی از آن‌ها در ژنوتیپ‌های انبه استان هرمزگان
Table 2- List of morphological attributes and their describe in mango genotypes of Hormozgan province

ردیف Row	صفات بررسی شده The studies attributes	توصیف صفت Attribute describe
1	عادت رشدی درخت Tree growth habit	افراشته، (۱)* نیمه‌افراشته (۲)، گسترده (۳) Erect (1) *, Semi-erect (2), Spreading (3)
2	ارتفاع درخت Tree height	پایلند (۱)، متوسط (۲)، پاکوتاه (۳) Long-legged (1), Moderate (2), Dwarf (3)
3	شکل برگ Leaf shape	کشیده-نیزه‌ای (۱)، نیزه‌ای (۲)، بیضوی-کشیده (۳) Elongate-Spear shaped (1), Spear shaped (2), Oval-Elongate (3)
4, 5	طول و عرض برگ بالغ Mature leaf length and width	اندازه‌گیری Measurement
6	نوک برگ Leaf tip	نوک تیز (۱)، گرد (۲) Sharp (1), Round (2)
7	حاشیه برگ Leaf margin	صاف (۱)، موجدار (۲) Smooth (1), Wavy (2)
8	موقعیت گل‌آذین Inflorescence status	انتهای (۱)، جانبی (۲)، هم‌انتهایی و هم‌جانبی (۳) Apical (1), Lateral (2), Apical and lateral (3)
9	شکل گل‌آذین Inflorescence shape	مخروطی (۱)، هرمی (۲)، هرمی گسترده (۳) Conic (1), Pyramid (2), Wide pyramid (3)
10	تراکم گل‌ها در گل‌آذین Flower density in inflorescence	کم پشت (۱)، پرپشت (۲) Thin (1), Dense (2)
11	طول گل‌آذین Inflorescence length	اندازه‌گیری Measurement
12	رنگ گل‌آذین Inflorescence color	سبز روشن (۱)، سبز با لکه‌های قرمز (۲)، قرمز روشن (۳)، قرمز تیره (۴)، کرم (۵) Light green (1), Green with red spots (2), Bright red (3), Dark red (4), Cream (5)
13	شکل میوه Fruit shape	کشیده (۱)، بیضوی (۲)، نسبتاً گرد (۳) Elongate (1), Oval (2), Fairly round (3)
14	رنگ پوست میوه بالغ Mature fruit peel color	قرمز (۱)، زرد (۲)، سبز-زرد (۳)، سبز (۴)، غیره (۵) Red (1), Yellow (2), Green-yellow (3), Green (4), etc (5).
15	دوره بلوغ میوه fruit maturity period	زودرس (۱)، میان‌رس (۲)، دیررس (۳) Early ripening (1), Mid ripening (2), Late ripening (3)
16	نوک میوه Fruit tip	ندارد (۰)، دارد (۱) Not has (0), has (1)
17	نوع نوک میوه Fruit tip type	ندارد (۰)، نقطه‌ای (۱)، برجسته (۲)، پستانکی شکل (۳) Not has (0), Point wise (1), Tipped (2), Panty-shaped (3)
18	سینوس Sinus	ندارد (۰)، دارد (۱) Not has (0), has (1)
19	نوع سینوس Sinus type	ندارد (۰)، کم عمق (۱)، عمیق (۲) Not has (0), Shallow (1), Deep (2)
20	شیب شانه‌ها The shoulder slope	دارای شیب تند (۱)، انتها با یک قوس کامل (۲)، شانه‌ها بالا آمده و سپس گرد شده (۳) Having steep slope (1), End with a complete arc (2), The shoulders are raised and then rounded (3)
21	قطر گل Flower diameter	اندازه‌گیری Measurement

*کدگذاری برای امتیازدهی Codification for scoring

توسعه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و در نهایت ۷ دقیقه توسعه نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. مشخصات نشانگرهای ISSR به کار رفته در واکنش PCR در

در ابتدا واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۴۰ چرخه شامل واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، اتصال آغازگرها در ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و

دهوسطی، کد ۱۴ و کد ۱۹. **گروه چهارم:** شاهانی، کلانفر راونگ، سیب، هویج و رقم دودو. **گروه پنجم:** گیلاسی و رقم لانگرا. **گروه ششم:** آلمهتری. **گروه هفتم:** کد ۱۳، کد ۱۸، کد ۱۶، کد ۱۵، خارجی، کد ۱۷ و خیار گلشوار و **گروه هشتم:** رقم سندری.

دامنه تشابه به‌دست آمده از تجزیه ماتریس تشابه داده‌های ریخت‌شناسی از ۰/۱۲ تا ۰/۸۳ متفاوت بود. حداقل میزان تشابه بین ژنوتیپ‌های آلمهتری و چارک دیده شد و حداکثر تشابه بین مشک، آناناسی گلشوار، نغال و هلیلی گلشوار بود. متوسط میزان تشابه به‌دست آمده نیز ۰/۵۴ بود. ضریب تشابه بین نغال و مشک ۰/۷۰، هلیلی گلشوار و مشک ۰/۷۶، هلیلی و نغال ۰/۷۶، آناناسی گلشوار و نغال ۰/۸۳، آناناسی گلشوار و مشک ۰/۸۳ و بین آناناسی گلشوار و هلیلی گلشوار ۰/۷۶ به‌دست آمد.

مقایسه میانگین‌ها و تجزیه واریانس براساس داده‌های ریخت‌شناسی

نتایج تجزیه ۲۱ ویژگی ریخت‌شناسی مورد نظر در ژنوتیپ‌های انبه مورد مطالعه، نشان داد که این ژنوتیپ‌ها از نظر همه صفات (به‌جز تراکم گل، شکل گل‌آذین، سینوس میوه و نوع سینوس) دارای اختلاف معنی‌داری بودند (جدول ۳).

نشانه‌های ISSR

آغازگرهای استفاده‌شده در این مطالعه در مجموع ۱۴۵ نوار قابل امتیازدهی تولید کردند. حداکثر تعداد نوار چندشکل در آغازگر MI808 با ۲۰ نوار و حداقل تعداد نوار چندشکل در آغازگر MI827 با ۶ نوار مشاهده شد. متوسط تعداد نوار به ازای هر آغازگر برابر ۱۱/۲ بود. میزان چندشکلی برای آغازگر MI837، ۹۴ درصد؛ برای آغازگرهای MI811 و MI868، ۹۰ درصد؛ برای آغازگر MI864، ۸۹ درصد؛ برای آغازگر MI827، ۸۶ درصد و برای دیگر آغازگرها، ۱۰۰ درصد بود. درصد چندشکلی کل نیز برابر ۹۶/۱ درصد محاسبه شد. الگوی باندهای تکثیرشده در دو آغازگر MI868 و MI846 در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. حداقل مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی در آغازگرهای MI868 و MI837 (به‌ترتیب ۰/۳۵۵ و ۰/۳۵۸) و حداکثر آن در آغازگرهای MI846^b و MI826 (به‌میزان ۰/۴۹۹) بود. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی برای تمام نوارهای تکثیری توسط تمام آغازگرها (PIC کل) برابر ۰/۴۵۰ بود (جدول ۴). براساس دندروگرام حاصله (شکل ۴)، ۳۹ ژنوتیپ انبه در هفت کلاستر دسته‌بندی شدند:

کلاستر اول: مشک، آناناسی گلشوار، نغال، هلیلی گلشوار، شوزانبه گلشوار، آناناسی چلو گاو‌میشی، میخک رودان، میخک میناب، هلیلی رودان، چارک، هلیلی دهوسطی و شوزانبه دهوسطی. **کلاستر**

جدول ۴ نشان داده شده است. محصول PCR با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد در دستگاه الکتروفورز (مدل ESP-600Z ساخت شرکت پایا پژوهش پارس ساخت ایران) با بافر TBE تفکیک شد. برای رنگ‌آمیزی DNA از Fluoro Dye و از مارکر ۱۰۰bp به عنوان سایزمارکر (تهیه‌شده از شرکت پیشگام) استفاده شد. برای بارگذاری نمونه‌ها، مقدار ۵ میکرولیتر از هر محصول PCR با ۲ میکرولیتر رنگ کاملاً مخلوط و سپس در چاهک‌های ژل بارگذاری شد. بعد از بارگذاری تمام نمونه‌ها، ژل به مدت ۱/۵ ساعت با ولتاژ ۱۰۰ و آمپر ۸۰ الکتروفورز شد. عکس‌برداری از باندهای تفکیک‌شده با استفاده از دستگاه ژل‌داک ساخت شرکت Uvitec (انگلیس) انجام شد. امتیازدهی باندهای تفکیک‌شده براساس وجود و یا عدم وجود باندها به ترتیب با ۱ و صفر انجام شد. برای تجزیه از نرم‌افزار NTSYS 2.02 استفاده شد. دندروگرام با استفاده از الگوریتم جفت گروه بدون وزن با میانگین حسابی (UPGMA¹) و براساس ضریب تشابه جاکارد رسم شد. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) هر یک از آغازگرهای ISSR با استفاده از رابطه $PIC=2fi(1-fi)$ محاسبه شد (۳۳) که در آن fi فراوانی تعداد باندهای تکثیرشده و $1-fi$ فراوانی باندهای نول می‌باشد.

تجزیه داده‌های ریخت‌شناسی

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، پس از اندازه‌گیری کمی صفات ریخت‌شناسی، داده‌ها در نرم‌افزار SAS 9.1 در قالب یک طرح کاملاً تصادفی در ۵ تکرار تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام شد. همچنین داده‌های ریخت‌شناسی براساس حالت تظاهر و امتیازبندی موجود در توصیف‌نامه، به صفر و یک تبدیل و ماتریس تشابه با استفاده از ضرایب تشابه جاکارد تشکیل و همانند داده‌های مولکولی، روابط تباری بین ژنوتیپ‌های انبه با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.02 در قالب دندروگرام ترسیم شد.

نتایج

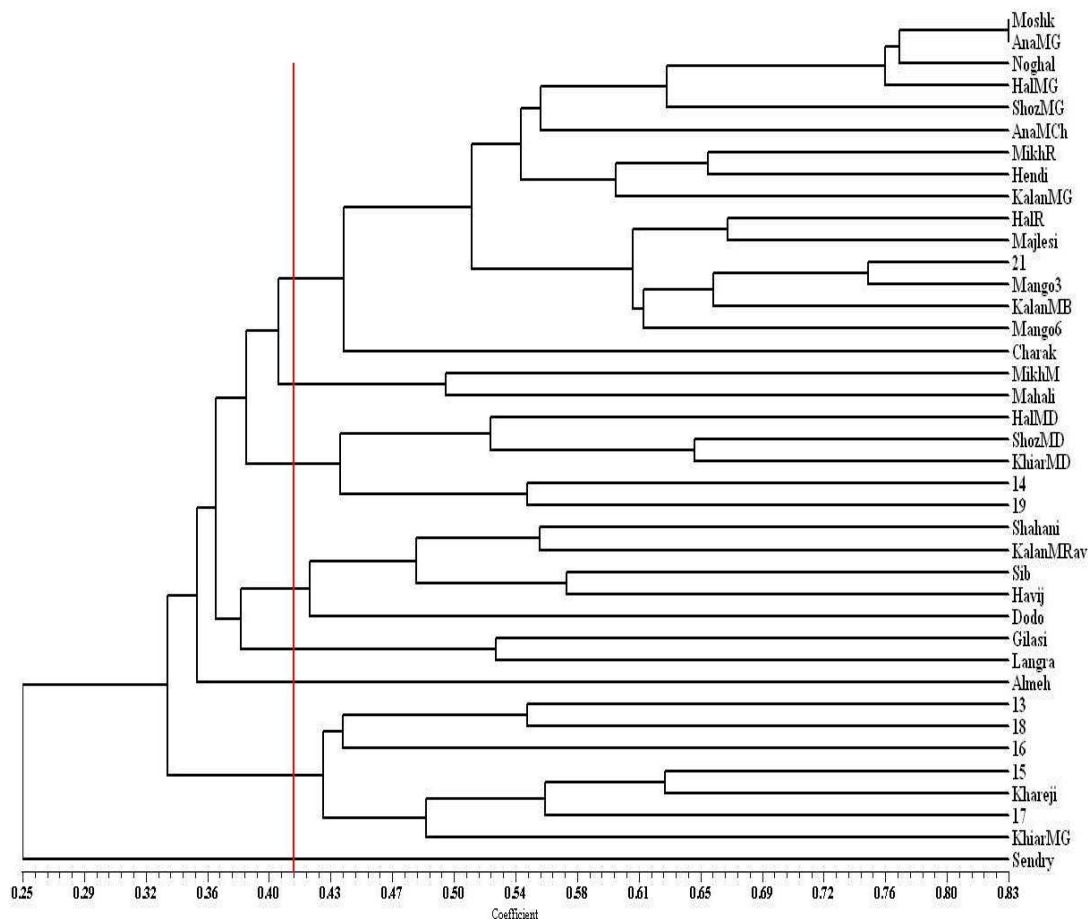
صفات ریخت‌شناسی

با استفاده از دندروگرام حاصل از داده‌های ریخت‌شناسی، ژنوتیپ‌ها به هشت گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند (شکل ۱). این هشت گروه عبارت بودند از: **گروه اول:** مشک، آناناسی گلشوار، نغال، هلیلی گلشوار، شوزانبه گلشوار، آناناسی چلو گاو‌میشی، میخک رودان، هندی، کلانفر گلشوار، هلیلی رودان، مجلسی، کد ۲۱، انبه ۳ رودان، کلانفر بازاری، انبه ۶ رودان و چارک. **گروه دوم:** میخک میناب و محلی. **گروه سوم:** هلیلی دهوسطی، شوزانبه دهوسطی، خیار

¹Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

شاهانی، کلانفر راونگ، سیب، هویج، رقم دودو، گیلاسی و رقم لانگرا، آل مهتری، خارجی، خیار گلشوار و رقم سندری. **کلاستر ششم:** مجلسی. **کلاستر هفتم:** کد ۱۶ و کد ۱۸.

دوم: کد ۱۳. **کلاستر سوم:** کد ۱۴، کد ۱۵، کد ۱۷ و کد ۱۹. **کلاستر چهارم:** کد ۲۱. **کلاستر پنجم:** هندی، کلانفر گلشوار، انبه ۳ رودان، کلانفر بازیاری، انبه ۶ رودان، محلی، خیار دھوسطی،



شکل ۱- دندروگرام حاصل از داده‌های ریخت‌شناسی با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA
Figure 1- Dendrogram resulted from morphological data using Jaccard's similarity coefficient and UPGMA algorithm

تجزیه به مختصات اصلی (PCA)

براساس نتایج PCA، ارقام هندی، کلانفر گلشوار، مجلسی، انبه ۳ رودان، کلانفر بازیاری، انبه ۶ رودان، محلی، کلانفر راونگ، دودو، گیلاسی، لانگرا و خارجی در کنار هم، ارقام چارک، مشک، نغال، هلیلی رودان، هلیلی دھوسطی، هلیلی گلشوار، آناناسی گلشوار، آناناسی چلو گاویشی، شوزانبه دھوسطی، شوزانبه گلشوار، میخک رودان و میخک میناب در کنار هم و ارقام آل مهتری، شاهانی، سیب، هویج، خیار گلشوار، خیار دھوسطی و سندری در کنار هم قرار گرفتند. ارقام کد ۱۴، کد ۱۵، کد ۱۶، کد ۱۷، کد ۱۸، کد ۱۹ و کد ۲۱ در مجارت یکدیگر و دور از سایر ارقام قرار گرفتند و کد ۱۳ جدا از سایر ارقام قرار گرفت (شکل ۵).

بحث

به طور کلی ارقام انبه به دو گروه کلی تک‌جنین و چندجنین تقسیم می‌شوند. در گروه تک‌جنین‌ها که عمدتاً نیمه گرمسیری محسوب شده و در کشورهای نظیر هند، پاکستان و ایران پرورش می‌یابند، جنین حاصل از بذر، تفرق صفات داشته و طی تکثیر بذری، گیاهی شبیه به اصل تولید نمی‌کند. در مقابل ارقام چندجنین که پراکنش مناسبی در نیمکره جنوبی و مناطق گرمسیری نظیر استرالیا و فیلیپین دارند، دارای جنین‌های نوسلار بوده و علاوه بر تولید یک جنین جنسی، جنین‌های خورشی شبیه به اصل نیز تولید می‌کنند که به عنوان پایه‌های همگروهی، گزینه‌های مناسبی برای تولید پایه یا

با توجه به ماهیت تک‌جینی انبه‌های موجود و عمده میوه‌های وارداتی، تنوع ناشی از تفرق صفات موجود در باغات این دو استان کاملاً طبیعی و قابل تفسیر می‌باشد. تقریباً همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش به جز رقم دودو تک‌جین بودند. تاکنون تلاش‌ها برای پی‌بردن به ماهیت تک‌جین یا چندجین بودن ارقام انبه از طریق نشانگرهای مولکولی موفقیت‌آمیز نبوده است.

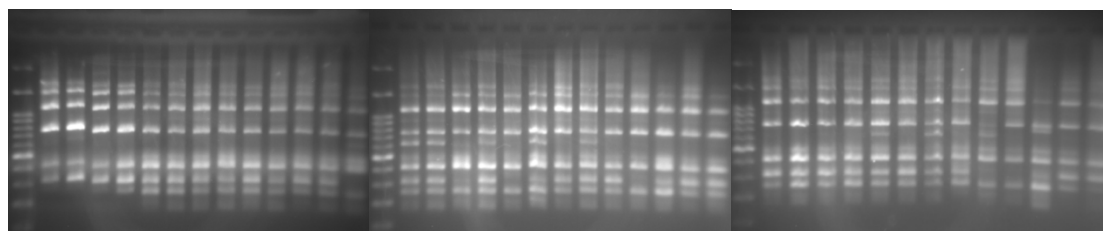
پیوندک محسوب می‌شوند (۵ و ۲۲). دامنه وسیع ماتریس تشابه پژوهش حاضر (هم در مورد داده‌های ریخت‌شناسی و هم در خصوص داده‌های مربوط به نشانگرهای ISSR) خود تأییدی بر تفرق صفات ناشی از کشت بذور تک‌جینی انبه در جنوب کشور می‌باشد. چرا که روند گسترش سطح زیرکشت انبه در ایران (دو استان هرمزگان و سیستان و بلوچستان) از سال‌ها قبل با تکثیر بذری ژنوتیپ‌های انبه موجود و میوه‌های وارداتی انجام شده است و همان‌گونه که گفته شد

جدول ۳- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها حاصل از مقایسه میانگین صفات ریخت‌شناسی
Table 3- Genotype grouping derived from mean comparison of morphological attributes

ردیف Row	صفت ریخت‌شناسی Morphological attribute	تعداد گروه ^۱ Group number	وضعیت گروه‌ها Groups status
1	Tree growth habit عادت رشدی درخت	2	a-b
2	Tree height ارتفاع درخت	3	a-c
3	Leaf shape شکل برگ	2	a-b
4	Leaf length طول برگ	15	a-o
5	Leaf width عرض برگ	14	a-n
6	Inflorescence status موقعیت گل‌آذین	2	a-b
7	Inflorescence shape شکل گل‌آذین	1	a
8	Flower density in inflorescence تراکم گل‌ها در گل‌آذین	1	a
9	Inflorescence length طول گل‌آذین	17	a-q
10	Inflorescence color رنگ گل‌آذین	4	a-d
11	Fruit shape شکل میوه	2	a-b
12	Mature fruit peel color رنگ پوست میوه بالغ	3	a-c
13	Leaf tip نوک برگ	2	a-b
14	Leaf margin حاشیه برگ	2	a-b
15	Petiole length طول دم برگ	9	a-i
16	Fruit tip نوک میوه	2	a-b
17	Fruit tip type نوع نوک میوه	2	a-b
18	Sinus سینوس	1	a
19	Sinus type نوع سینوس	1	a
20	The shoulder slope شیب شانه‌ها	2	a-b
21	Flower diameter قطر گل	3	a-c

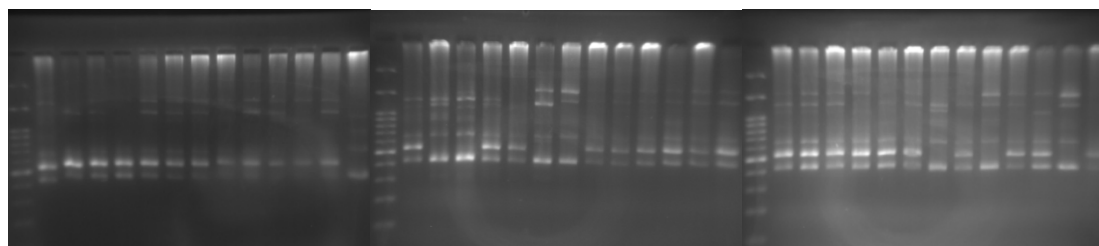
^۱صفت ریخت‌شناسی با تعداد گروه‌بندی بیشتر، تنوع بیشتری بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد.

^۱Morphological attribute with more grouping number, showed more diversity among the studied genotypes.



شکل ۲- الگوی بانندی حاصل از آغازگر MI868

Figure 2- Banding pattern resulted from MI868 primer



شکل ۳- الگوی بانندی حاصل از آغازگر MI846
Figure 3- Banding pattern resulted from MI868 primer

جدول ۴- اطلاعات به دست آمده از آغازگرهای ISSR برای ۳۹ ژنوتیپ انبه

Table 4- The obtained information from ISSR primers for 39 mango genotypes

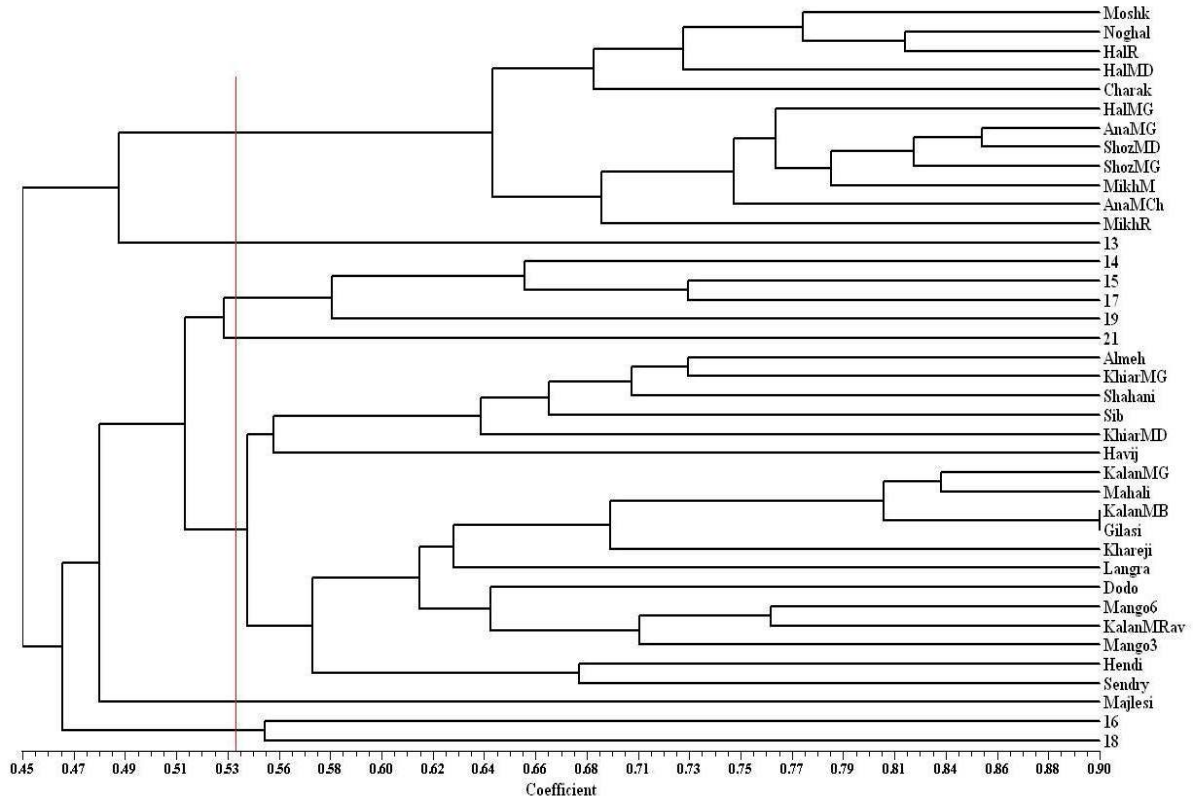
کد آغازگر Primer code	توالی Sequence (5'---3')	تعداد کل باند Total band no.	تعداد باند چندشکل Polymorphism band no.	درصد چندشکلی Polymorphism %	محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC)
MI816	(CA) ₈ T	12	12	100	0.404
MI823	(CT) ₈ C	10	10	100	0.368
MI835 ^b	(AG) ₈ CC	9	9	100	0.494
MI846 ^b	(CA) ₈ AT	9	9	100	0.499
MI808	(AG) ₈ C	20	20	100	0.427
MI811	(GA) ₈ C	10	9	90	0.491
MI818	(CA) ₈ G	10	10	100	0.488
MI825	(AC) ₈ T	9	9	100	0.475
MI826	(AC) ₈ C	12	12	100	0.499
MI827	(AC) ₈ G	7	6	86	0.494
MI864	(ATG) ₆	9	8	89	0.492
MI868	(GAA) ₆	10	9	90	0.355
MI837	(GACA) ₄	18	17	94	0.358
Sum جمع		145	140	-	-
Mean میانگین		11.2	10.8	96.1	0.450

صفات ریخت‌شناسی ممکن است به‌طور کافی برای بیان وجود و یا عدم‌تجانس میان ژنوتیپ‌های یک رقم مناسب نباشد و به همین دلیل تلفیق صفات ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی می‌تواند برآیند جامعی از نقشه ژنتیکی جمعیت‌های یک گونه را بیان کند (۳).

در پژوهش حاضر، نتایج تجزیه ویژگی‌های ریخت‌شناسی ژنوتیپ‌های انبه نشان داد که این ژنوتیپ‌ها از نظر صفات ریخت‌شناسی به‌جز تراکم گل و شکل گل آذین، دارای اختلاف‌های معنی‌داری هستند و این روش به‌خوبی توانست ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را از هم تفکیک و گروه‌بندی نماید. براساس خوشه‌بندی داده‌های ریخت‌شناسی، ژنوتیپ‌های مورد بررسی به هشت گروه تقسیم شدند که در آن ارقام شناخته‌شده‌ای نظیر لانگرا و سندری در کلاس مجزایی از هم قرار گرفتند و دارای تفاوت فاحشی با بیشتر ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر صفات ریخت‌شناسی بودند. کارایی ویژگی‌های ریخت‌شناسی در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انبه توسط محققین مختلفی تأیید شده است. به عنوان مثال بویان و گوها (۴) نشان دادند که دامنه وسیعی از تنوع در صفات میوه انبه وجود دارد که می‌تواند در گروه‌بندی ارقام انبه مورد استفاده قرار گیرد. همچنین خصوصیات میوه می‌تواند به‌عنوان ابزاری مفید برای شناسایی

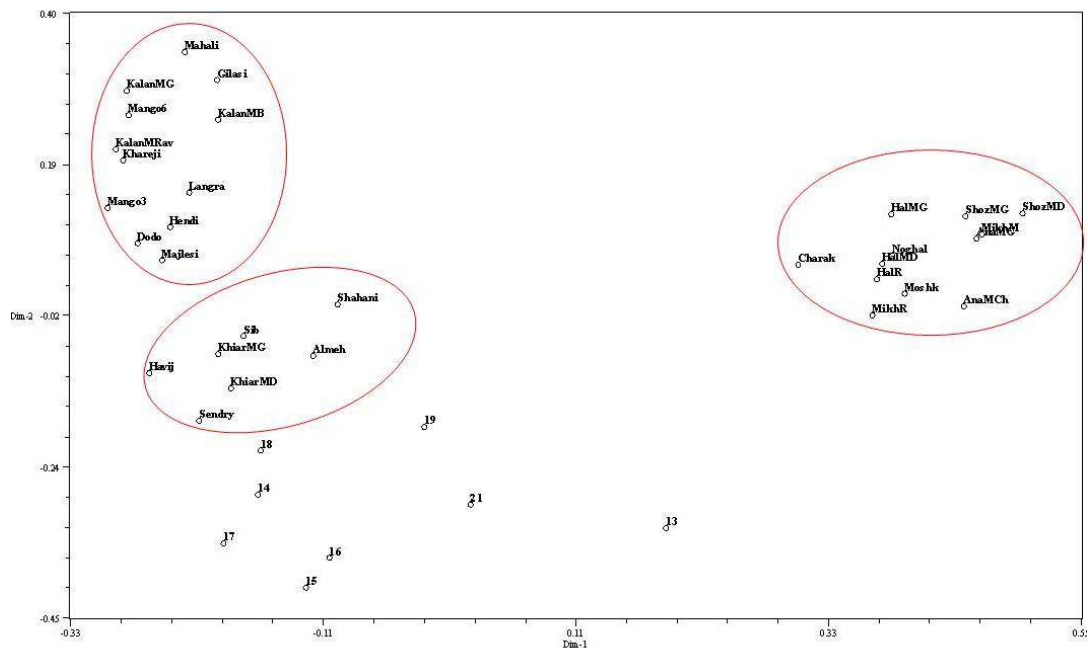
ویژگی‌های ریخت‌شناسی از قدیمی‌ترین و پرکاربردترین نشانگرهای مورد استفاده برای بررسی تنوع ژنتیکی در گیاهان هستند که هنوز هم در موارد متعددی که ارقام براساس صفات برگ، گل آذین، میوه و دیگر خصوصیات فیزیکی شناسایی می‌شوند، این روش، کماکان قابل استفاده می‌باشد هرچند صفات مورد بررسی در این نشانگرها ممکن است براساس شرایط محیطی تغییر یابند. به‌علاوه، تشخیص دقیق برخی ارقام براساس صفات ریخت‌شناسی مشکل است چرا که ارقام مشابه پرورش‌یافته در نواحی مختلف، صفات ریخت‌شناسی متفاوتی دارند. عمده‌ترین فواید نشانگرهای ریخت‌شناسی شامل سادگی و سرعت در ارزیابی، کم‌هزینه‌بودن و قابلیت به‌کارگیری آن‌ها حتی در نمونه‌های موجود در هر بار بوم‌های گیاهی و یا بافت‌های مرده می‌باشد (۳ و ۲۰). با این وجود این روش به‌دلیل محدودبودن ویژگی‌های ریخت‌شناسی همیشه قابل استفاده نبوده و یا این که با قطعیت قابل بررسی نیستند. به علاوه ممکن است این صفات ریشه در ژنوم موجود نداشته و از طریق اثرات ژنی اپیستازی و پلوتروپیک کنترل شوند. زمان بر بودن این روش بررسی به‌خصوص در گیاهانی که دوره نونهالی در آن‌ها طولانی است، از دیگر معایب این نوع روش بررسی تنوع ژنتیکی می‌باشد. بنابراین

ژنوتیپ‌های خاص در نظر گرفته شود (۹، ۱۴، ۲۵ و ۳۵).



شکل ۴- دندروگرام حاصل از داده‌های ISSR با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA

Figure 4- Dendrogram resulted from ISSR data using Jaccard's similarity coefficient and UPGMA algorithm



شکل ۵- تجزیه به مختصات اصلی (PCA) براساس داده‌های مولکولی

Figure 5- Principle Component Analysis (PCA) based on ISSR data

در تأیید نتایج موجود می‌توان به تجزیه ریخت‌شناسی برخی ارقام انبه در هندوستان توسط سینگ و همکاران (۳۶) اشاره کرد. آن‌ها نشان دادند که بررسی صفات ریخت‌شناسی، وجود تنوع بین ارقام استاندارد و نتایج حاصل از آن‌ها را به‌خوبی مشخص نمود (۳۶). همچنین براساس یافته‌های هاگو و همکاران (۱۲) مشخص شد که ژنوتیپ‌های مختلف انبه، دارای خصوصیات برجسته‌ای از نظر طول، عرض و ضخامت هسته برای بررسی‌های ریخت‌شناسی هستند.

کشف و به‌کارگیری نشانگرهای مولکولی در سال‌های اخیر، با هدف بررسی جزئیات ژنتیکی و به‌عنوان راه‌کاری برای اصلاح گیاهان، افزایش چشمگیری داشته است. نشانگرهای مبتنی بر DNA نظیر ISSR، RAPD و RFLP ابزارهای مناسبی برای مطالعه تنوع ژنتیکی در گیاهان هستند. این نشانگرها تنوع را در سطح DNA بررسی کرده و به‌ندرت تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند (۲۰). در پژوهش حاضر، دامنه تشابه به‌دست‌آمده در ماتریس تشابه حاصل از نشانگرهای ISSR از ۰/۳۱ تا ۰/۹۰ متفاوت بود که تأییدی بر نتایج داده‌های ریخت‌شناسی در ارتباط وجود تنوع بالای ژنتیکی میان ژنوتیپ‌های انبه می‌باشد. وجود تفاوت ژنتیکی در ژنوتیپ‌های مشتق شده از رقم کنسینگتون‌پراید با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD (۲) و یا بررسی تغییرپذیری درون رقمی در ارقام بیگمپلی، داشهری و لانگرا با استفاده از نشانگرهای ISSR (۳۶) بیشتر بررسی و تأیید شده است.

نشانگرهای ISSR یک ابزار قوی در شناسایی ارقام انبه و تعیین تنوع ژنتیکی بین آن‌ها هستند (۱۱، ۴۰ و ۳۰). با استفاده از این نشانگرها بسیاری از ارقام به راحتی قابل تفکیک هستند. به علاوه، برخی قطعات توسط این نشانگرها به‌طور منحصربفردی تکثیر شده که در ژنوتیپ‌های دیگر دیده نمی‌شوند. این قطعات، سهم زیادی در شناسایی ژنوتیپ‌های انبه به عهده دارند (۷ و ۱۸). یوکوسکیت (۳۹)، ۳۹ باند حاوی توالی‌های تکرارشونده دو نوکلئوتیدی در انبه گزارش کرد که برای توسعه نشانگرهای ریزماهوره قابل استفاده هستند. نتایج به‌طور واضح نشان می‌دهند که آزمون‌های مبتنی بر PCR در نشانگرهای غالب (بارز) یک ابزار خوب برای تجزیه ژنتیکی ژنوتیپ‌های انبه هستند.

در پژوهش حاضر تفاوت‌هایی در ژنوتیپ‌های یکسان پرورش‌یافته در مناطق مختلف مشاهده شد. همان‌طور که در مطالب قبلی اشاره شد، صفات ریخت‌شناسی تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند به‌طوری که تغییر شرایط محیطی ممکن است بر اندازه اندام‌های رویشی و زایشی تأثیرگذار باشد. انبه از جمله گیاهان مناطق حاره‌ای است که به شدت به کاهش کیفیت آب و خاک حساس بوده و با افزایش هدایت الکتریکی آب آبیاری، از ۱۰۰۰ میکروموس به بالا، دچار نقصان شده و رشد رویشی آن تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در پی

صفات کیفی نظیر شکل میوه، نوک میوه و گودی دم میوه نیز که کمتر تحت تأثیر فاکتورهای محیطی قرار می‌گیرند، از دیگر صفات مناسب برای بررسی‌های تنوع ژنتیکی هستند (۲۳) که در پژوهش حاضر نیز مورد استفاده قرار گرفتند. از دیگر موارد مربوط به استفاده از صفت میوه در بررسی‌های ژنتیکی می‌توان به پژوهش‌های سینگ و همکاران (۳۶) (بررسی تنوع در رقم بنگالپالی براساس تجزیه ریخت‌شناسی ۱۷ پارامتر در میوه)، نایک (۲۷) (تغییرپذیری زیاد بین درختان یک رقم انبه از نظر اندازه، شکل، رنگ و کیفیت میوه) و بالی و همکاران (۲۳) (تنوع فنوتیپی در نوع میوه در ۱۵ ژنوتیپ از رقم کنسینگتون‌پراید به‌عنوان یک رقم انبه چندجنین) اشاره کرد. همچنین جیتانانانگ و همکاران (۱۷) استانداردهای کیفی خاصی را برای ژنوتیپ‌های انبه براساس اندازه، شکل، رنگ، وزن، بافت و میزان فیبر میوه تعیین کردند که همگی نشان از کارایی بالای این صفات در گروه‌بندی ژنوتیپ‌های انبه دارد. در پژوهش حاضر نیز نشان داده شد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دارای تنوع بالایی از نظر پارامترهای مربوط به میوه بودند که همسو با پژوهش‌های فوق و تحقیقات انجام‌شده توسط هیومن (۱۳) و مورتون (۲۴) می‌باشد که تنوع فراوان در پارامترهای میوه انبه را گزارش کرده‌اند. آن‌ها نشان دادند که انبه می‌تواند دارای میوه‌های بسیار کوچک از نظر وزنی (چند گرم تا یک کیلوگرم) و یا طولی (از ۲/۵ تا ۳۰ سانتی‌متر) در ارقام مختلف باشد. همچنین براساس یافته‌های هاگو و همکاران (۱۲) مشخص شد که ژنوتیپ‌های مختلف انبه، دارای خصوصیات برجسته‌ای از نظر طول، عرض و ضخامت هسته برای بررسی‌های ریخت‌شناسی هستند.

به‌طور معمول، هتروزیگوسیتی بین رقمی در انبه عمدتاً در سطح ریخت‌شناسی توسط چندین محقق تشخیص داده شده است (۱۰، ۲۶، ۲۷، ۳۱، ۳۳ و ۳۶). پاندی (۳۳) برخی تفاوت‌ها در بین ژنوتیپ‌های مختلف انبه مشتق‌شده از رقم آلفونسو مشاهده نمود. در مطالعه‌ای دیگر که برای تشریح ارقام انبه رشدیافته در تایلند با استفاده از توصیف نامه IPGRI انجام شد، مشخص شد که پارامترهای مورد بررسی، برای تشریح همه ارقام مناسب بودند (۳۷). تنوع ریخت‌شناسی که قبلاً در همگروه‌های انبه گزارش شده است به چند عامل مانند هیبریداسیون احتمالی، موتاسیون سوماتیکی خودبخودی، تنوع پایه‌ای و عوامل محیطی (۲۷، ۳۳ و ۳۶) وابسته می‌باشد.

با توجه به نتایج نشانگرهای ISSR و تأیید وجود تنوع ژنتیکی بالا در میان ژنوتیپ‌های انبه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بخش قابل توجهی از تنوع ریخت‌شناسی مشاهده‌شده میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این پژوهش، به وجود تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها مربوط شده و ناشی از تغییرات محیطی و میکروکلیمایی نمی‌باشد. همچنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که بخش اعظمی از تنوع تشخیص داده شده توسط نشانگرهای ISSR، در نواحی رمزگذاری ژنوم انبه بوده است.

باشد که باعث عدم همراهی صفات ریخت‌شناسی و مولکولی شده است. به همین دلیل ژنوتیپ‌هایی که از نظر ژنتیکی تشابه بالایی با هم دارند ممکن است از نظر ریخت‌شناسی تفاوت‌های زیادی با هم داشته باشند و یا دو ژنوتیپ هم‌نام در دو منطقه، تفاوت‌های ژنتیکی فاحشی با هم داشته باشند. به‌عنوان مثال ژنوتیپ کلانفر بازاری که ضریب تشابه ژنتیکی بالایی (۰/۹۰) با ژنوتیپ گیلاسی داشت، از نظر ریخت‌شناسی ضریب تشابهی برابر ۰/۳۷ با هم داشتند. این در حالی است که ژنوتیپ گیلاسی که از منطقه احمدآباد میناب جمع‌آوری شده بود با منطقه بازاری شباهت اکولوژیکی یکسانی داشت. در مثالی دیگر، ضریب تشابه ژنتیکی ژنوتیپ آناناسی گلشوار و شوزانبه دهوسطی ۰/۸۵ بود در حالی که این دو ژنوتیپ از نظر ریخت‌شناسی ۳۸ درصد با هم تشابه داشتند. ضریب همبستگی بین ماتریس تشابه ژنتیکی و مورفولوژی حدود ۰/۳۳۶ و غیرمعنی‌دار بود. این عدد حاکی از همبستگی ضعیف و غیرمعنی‌دار بین صفات ریخت‌شناسی و نشانگرهای ژنتیکی بود.

خشکسالی‌های اخیر و عدم وقوع مناسب باران یا پراکنش نامطلوب بارش‌ها، مناطق عمده تولید انبه در استان هرمزگان دچار کم‌آبی شده و درختان موجود پتانسیل واقعی خود را بروز نمی‌دهند. این در حالی است که در بسیاری از مناطق میناب، آبیاری باغات انبه به‌صورت سه‌ماه یک‌بار و آن هم با آبی با کیفیت نامناسب انجام می‌شود. از طرفی مدیریت باغات انبه در بسیاری از مناطق استان هرمزگان که عمدتاً به‌صورت سنتی کشت شده‌اند و همچنین عمر بالایی دارند، ضعیف بوده و تغذیه و مبارزه با آفات و بیماری‌ها به‌نحو صحیحی انجام نمی‌شود. مسلماً عدم اجرای صحیح مدیریت در باغ و همچنین عدم دسترسی به شرایط رشدی مناسب، می‌تواند بر صفات ریخت‌شناسی درختان تأثیر داشته باشد. در منطقه رودان به‌واسطه کیفیت بهتر آب آبیاری و همچنین دسترسی کافی و مناسب به آب آبیاری، شرایط رشدی درختان انبه در وضعیت بسیار مناسب‌تری نسبت به مناطق میناب قرار دارد. این تفاوت‌های موجود از نظر شرایط رشدی در مناطق رودان و میناب می‌تواند دلیل ایجاد تنوع ریخت‌شناسی زیادی بین ژنوتیپ‌های مشابه انبه در این دو منطقه

منابع

- Adato A., Sharon D., Lavi U., Hillel I., and Gazit S. 1995. Application of DNA fingerprints for identification and genetic analysis of Mango (*Mangifera indica*) genotypes. Journal of American Society of Horticultural Sciences, 120: 259-264.
- Bally I.S.E., Graham G.C., and Henry R.J. 1996. Genetic diversity of Kensington mango in Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture, 36: 243-247.
- Begum H., Reddy M.T., Malathi S., Reddy B.P., Narshimulu N., Nagaraju J., and Siddiq E.A. 2014. Morphological and microsatellite analysis of intravarietal heterogeneity in 'Beneshan' mango (*Mangifera indica* L.). International Journal of Agricultural and Food Research, 3(2): 16-33.
- Bhuyan M.A.J., and Guha D. 1995. Performance of some exotic mango germplasm under Bangladesh conditions. Bangladesh Horticulture, 23(1&2): 17-22.
- Bose T.K., and Mitra S.K. 1990. Fruits: Tropical and subtropical. NAYA PROKASH, India.
- Doyle J.J., and Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12: 13-15.
- Eiadthong W., Yonemori K., Kanzaki S., Sugiura A., Utsunomiya N., and Subhadrabandhu S. 2000. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis for studying the genetic relationship among *Mangifera* species in Thailand. Journal of American Society of Horticultural Sciences, 125(2): 160-164.
- FAO. 2016. FAOSTAT agriculture data, Domain: Agriculture Production. (Food and Agriculture Organization of the United Nations) <http://apps.fao.org/>.
- Galvez-Lopez D., Salvador-Figueroa M., Adriano-Anaya M.L., and Mayek-Perez N. 2010. Morphological characterization of native mangos from Chiapas, Mexico Subtropical. Plant Science Journal, 62: 18-26.
- Gan Y.Y., Zaini S., and Idris A. 1981. Genetic variation in the grafted vegetatively propagated mango (*Mangifera indica*). Pertanika, 4(1): 53-62.
- Gonzalez A., Coulson M., and Brettell R. 2002. Development of DNA markers (ISSRs) in mango. Acta Horticulturae, 575: 139-143.
- Haque A.M.M.M., Ali M.R., Uddin M.R., and Hossain A.K.M.A. 1993. Evaluation of elite mango cultivars at southern region of Bangladesh. Bangladesh Journal of Plant Breeding and Genetic, 6(2): 21-28.
- Human C.F. 2008. Production areas. In: de Villiers, E.A., Joubert, P.H. (eds). The Cultivation of Mango. ARC-Institute for Tropical and Subtropical Crops, pp: 9-15.
- Illoh H.C., and Olorode O. 1991. Numerical taxonomic studies of mango (*Mangifera indica* L.) varieties in Nigeria. Euphytica, 51: 197-205.
- IPGRI. 2006. Descriptors for Mango (*Mangifera indica* L.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

16. Jayasankar S., Litz R.E., Schnell R.J., and Hernandez A.C. 1998. Embrogenic mango cultures selected for resistance to *Colletotricum gloeosporioides* culture filtrate show variation in random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 34(2): 112-116.
17. Jintanawong S., Hiranpradit H., Polprasid P. and Duangpikul P. 1992. Group characterization of Thai mango, *Mangifera indica* L. *Acta Horticulturae*, 321: 254-261.
18. Krauss S.L. 2000. Accurate gene diversity estimates from amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Molecular Ecology*, 9: 1241-1245.
19. Kumar N.V.H., Narayanaswamy P., Prasad D.T., Mukunda G.K., and Sondur S.N. 2001. Estimation of genetic diversity of commercial mango (*Mangifera indica* L.) cultivars using RAPD markers. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76: 529-533.
20. Kumar S., and Venkateswarlu K. 2013. Clonal variability studies in 'Alphonso' mango (*Mangifera indica* L.) by phenotypic characters and molecular markers. *International Journal of Pharmamedix India*, 1(2): 398-414.
21. Litz R.E. 2001. Recovery of mango plants with anthracnose resistance following mutation induction and selection in vitro with the phytoalexin(s) produced by *Colletotricum gloeosporioides* Penz. Report of the First Co-ordinated Research Project. Vienna: Jhnt FAO/IAEA Division: 73-78.
22. Luo C., He X., Chen H., Ou S., Gao M., Brown J.S., Tondo C.T., and Schnell R.J. 2011. Genetic diversity of mango cultivars estimated using SCoT and ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39: 676-684.
23. Morell M.K., Peakll R., Apels R., Preston L.R., and Lloyd H.L. 1995. DNA profiling techniques for plant variety identification. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 35: 807-819.
24. Morton J.F. 1987. Fruits of warm climates. Miami. Florida Flair Books, pp: 221-239.
25. Mussane C.R.B., Biljon A.V., and Herselman L. 2010. Morphological and genetic characterization of mango varieties in Mozambique. Second Ruforum Biennial Meeting 20-24, September 2010, Entebbe, Uganda pp: 991-995.
26. Naik K.C. 1948. Improvement of mango (*Mangifera indica* L.) by selection and hybridization. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 18(1): 35-41.
27. Naik K.C. 1971. Mango improvement. *Andhra Agricultural Journal*, 18(6): 221-222.
28. Naghavi M.R., Ghareyazi B., Hosseini Salekdeh GH. 2009. Molecular markers. Tehran University Publication. 337 p.
29. Nakasone H.Y., and Paull R.E. 1998. Tropical fruits. Cab International.
30. Nybom H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 5: 1143-1150.
31. Oppenheimer C. 1956. Study tour report on subtropical fruit growing and research in India and Ceylon. Special Bulletin No. 3, State of Israel, Ministry of Agriculture, Agricultural Research Station, Rehovot, Israel, October.
32. Ozkaya M.T., Cakir E., Gokbayrak Z., Ercan H., and Taskin N. 2006. Morphological and molecular characterization of Derik Halhali olive (*Olea europaea* L.) accessions grown in Derik-Mardin province of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 108: 205-209.
33. Pandey S.N. 1998. Mango cultivars. In Srivastav, R.P.P. (Ed.) *Mango Cultivation*. International Book Distributing Company, Lucknow, India, pp. 39-99.
34. Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., and Rafalsky A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225-238.
35. Rajwana I.A., Khan I.A., Malik A.U., Saleem B.A., Khan A.S., Ziaf K., Anwar R., and Amin M. 2011. Morphological and biochemical markers for varietal characterization and quality assessment of potential indigenous mango (*Mangifera indica*) germplasm. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13: 151-158.
36. Singh S., Gaikwad A.B., and Karihaloo J.L. 2009. Morphological and molecular analysis of intra cultivar variation in Indian mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Acta Horticulture*, 829: 205-212.
37. Sokal R.R., and Sneath P.N.A. 1963. Principles of numerical taxonomy. Free-man, San Francisco.
38. Tomar R.S., Gajera H.P., Viradiya R.R., Patel S.V., and Golakiya B.A. 2014. Characterization of mango genotypes of Gir region based on ISSR markers. *Indian Journal of Horticulture*, 71(1): 1-5.
39. Ukoskit K. 2007. Development of microsatellite markers in mango (*Mangifera indica* L.) using 5' anchored PCR. *Thammasat International Journal of Science and Technology*, 12: 1-7.
40. Zhao Y., Chen X.Y., Wang X.R., and Pian R.Q. 2007. ISSR analysis of genetic diversity among *Lespedeza bicolor* populations. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2: 195-199.



Genetic Diversity among Mango (*Mangifera indica* L.) Genotypes in Hormozgan Province Using Morphological and ISSR Markers

A. Bagheri^{1*} - H. Hassanzadeh Khankahdani² - V. Ghanbari³ - M. Askari Seyahooei⁴ - S. S. Modarres Najafabadi⁵

Received: 17-06-2018

Accepted: 05-12-2018

Introduction: Assessment of genetic diversity in Mango can provide a platform to deepen our knowledge about its genetic background and determine the high quality genotypes for involving in the inbreeding programs. The high observed diversity among native landraces of mango can be used in breeding programs to produce better cultivars and utilization of these cultivars as donor parent to transfer desirable characteristics to high-bearing cultivars. Suitable mango cultivars to prepare rootstock and scion and resistant cultivars against diseases and the high yielding cultivars (with regards to alternate bearing in mango) can be recognized by better understanding of available germplasms. In the past two decades in southern Iran, the process of producing the grafted mango trees via seed culturing and grafting suitable cultivars (What has been registered such as Sindary and Langra and what has not been registered) on the seedlings has been accelerated. Therefore, studying the diversity of mango germplasms in these regions can be a good way to identify and distinguish these genotypes. In the present study, native genotypes of mango from Minab and Rudan counties (Hormozgan Province) were collected, which are mainly produced through seed and over time they have been propagated by vegetative methods based on the quality and taste and their diversity, was evaluated using morphological attributes and molecular markers.

Materials and Methods: In this experiment, we studied genetic and morphological diversity of 39 mango genotypes collected from Minab and Rudan counties (Hormozgan province) using ISSR markers and morphological attributes. Morphological characteristics were assessed using IBPGR descriptor. DNA extraction was done using modified CTAB method. Similarity coefficient of ISSR markers was calculated by Jaccard's procedure. Polymorphism information content (PIC) was calculated using $PIC=2f_i(1-f_i)$ formula, where f_i was frequency of the amplified bands and $1-f_i$ was frequency of the null bands. In order to analyze morphological data SAS 9.1 software was used and the means were compared using LSD test. In addition, it was prepared a 0 and 1 matrix from morphological data and dendrogram of morphological attributes was designed using Jaccard's similarity coefficient.

Results and Discussion: The dendrogram inferred from morphological characters grouped all genotypes in eight main clades in which similarity of the dendrogram ranged from 0.12 to 0.83 with mean value of 0.54. The least similarity was observed between Almehtari and Charak, and the most similarity was observed among Moshk, AnaMG, Noghal and HalMG. Analysis of 21 morphological parameters in the studied genotypes demonstrated being of significant differences among these genotypes in terms of morphological attributes (except flower density and inflorescence shape). The ISSR primers produced totally 145 scorable bands that the highest and lowest polymorphism band were observed in MI808 (20 bands) and MI827 (6 bands) primers, respectively. Average of PIC was 0.450. The similarity for ISSR markers ranged from 0.31 to 0.90, in which the least similarity was observed between Majlesi and Charak. However, the highest similarity was observed between Gilasi and KalanMB genotypes. It was observed the differences among same genotypes grown in the various regions. In Rudan region in due to better quality of irrigation water as well as sufficient and proper availability to irrigation water, growth conditions for mango trees is better than Minab region. These differences between Rudan and Minab regions in viewpoint of growth conditions can be reason of morphological diversity among mango similar genotypes in both regions, which it has been caused to incompatibility of morphological and molecular markers. For this reason, the genotypes that are genetically similar to each other may have different morphological differences and/or two homonymous genotypes in two regions have significant genetic

1 , 4 and 5- Assistant Professors of Plant Protection Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

2 Researcher of Horticulture Crop Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resource Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bandar Abbas, Iran

3 M.Sc in Horticulture, Islamic Azad University, Branch Jiroft

(* - Corresponding Author Email: nabibagheri53@gmail.com)

differences. For example, Clanfar Baziari genotype, which had high genetic similarity (0.90) with Gilasi genotype, had morphological similarity coefficient equal 0.37 together. However Gilasi genotype collected from Ahmadabad Minab had same ecological similarity with Baziari region. In other instant, genetic similarity coefficient of AnaMG genotype was 0.85 with ShozMD, while in these genotypes had 38% morphological similarity. Correlation coefficient between similarity matrix of ISSR and morphological markers was 0.336 and not significant.

Conclusion: It seems that the observed high diversity among morphological attributes is intrinsically and stemming from mango propagation procedure in which mango genotypes highly diverged due to seed propagation. The high genetic diversity showed by morphological attributes was also corroborated by ISSR markers, indicating low environmentally influence-ability of the attributes.

Keywords: Fingerprint, Molecular marker, Morphological markers, PIC