مجله علوم باغبانی ایران
دوره ۴۲، شماره ۲، ۱۳۹۰ (۲۱۵-۲۰۷)

بررسی روابط ژنتیکی تعدادی از انگورهای وحشی و زراعی ایران با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

حامد دولتی بانه[1]*، سید ابوالقاسم محمدی[2] و قاسم حسنی[3]
۱، ۳، استادیار پژوهش و عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی
۲، استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
(تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۵ - تاریخ تصویب: ۹۰/۲/۲۵)

چکیده

به منظور بررسی روابط ژنتیکی مابین ۷۲ رقم انگور زراعی و ۶۵ ژنوتیپ وحشی استان آذربایجان غربی و کردستان از ۱۹ جفت آغازگر ریزماهواره هسته‌ای استفاده شد. از مجموع ۱۹ آغازگر تکثیر یافته مجموعاً ۱۶۳ آلل در ارقام زراعی با متوسط ۸/۶ آلل و ۱۵۳ آلل در ژنوتیپ‌های وحشی انگور با میانگین ۸/۰۵ آلل تکثیر شد. هتروزیگوتی مورد انتظار از ۰/۷۰ در انگورهای زراعی تا ۰/۷۳ در ژنوتیپ‌های وحشی متغیر بود. میزان هتروزیگوتی مشاهده شده در ارقام ۷۲ /۰ و در انگورهای وحشی ۰/۶۸ بود. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های مولکولی انگورهای زراعی و وحشی را در دو گروه متفاوت از همدیگر قرار داد. هر چند که در گروه انگورهای زراعی چند نمونه انگور وحشی نیز قرار گرفتند. نتایج حاصله از این تحقیق تفاوت‌های ژنتیکی را در سطوح مختلف بین ارقام زراعی و انگورهای وحشی نشان داد به طوری که به غیر از چند رقم بومی منطقه بانه و سردشت ارتباط ژنتیکی قوی بین جمعیت‌های وحشی و ارقام انگور مورد بررسی مشاهده نشد. ظاهراً این ارقام انگور مورد بررسی، با استثناء انگورهای بومی جنوب استان آذربایجان غربی، منشاء متفاوتی با انگورهای وحشی دارند. بر این اساس می‌توان اظهار داشت که طی زمان‌های بسیار قدیم ارقام زراعی به این ناحیه وارد شده‌اند و یا اینکه اجداد اولیه، که انگورهای زراعی این مناطق از آنها حاصل شده‌اند، در طی زمان از بین رفته‌اند.

واژه‌های کلیدی: انگور سیلوسترس، فیلوژنتیک و نشانگرهای مولکولی.

مقدمه

در حال حاضر منشاء اغلب ارقام انگور موجود مورد بحث کارشناسان می‌باشد، به ویژه هیچ توافقی در مورد مرکز اولیه اهلی شدن انگور و یا مراکز ثانویه وجود ندارد. بر اساس مطالعات جغرافیای گیاهی و باستان شناسی، ناحیه خاور نزدیک به عنوان مرکز اولیه انگور معرفی شده است (Zohary & Hopf, 1993). براساس مطالعات باستان‌شناسی گیاهی پیشنهاد شده است که اهلی شدن انگور ابتدا در نیمه دوم هزاره چهارم قبل از میلاد مسیح در دو ناحیه هم جوار، ناحیه مزوپوتامیا[1] (شامل جنوب آناتولی، سوریه، شمال لبنان، کردستان عراق و غرب ایران) و جنوب دریای خزر اتفاق افتاده است (Labra et al., 2002). اطلاعات باستان‌شناسی شامل پیدا شدن بذور انگورهای زراعی مربوط به هزاره چهارم قبل از

1. Mezopotamia

* نویسنده مسئول: حامد دولتی بانه تلفن: ۶-۲۲۶۲۲۲۲-۰۴۴۱ E-mail: ah_dolati@yahoo.com

میلاد در خاورمیانه و همچنین شواهدی مربوط به تولید شراب در ایران در هزاره ششم قبل از میلاد نیز این نظر را تأیید می‌کنند (Mc Govern, 2003). کلیه ارقام قدیمی انگور (*Vitis vinifera* ssp sativa) از اجداد وحشی (*Vitis vinifera* ssp sylvestris) خود اهلی شده‌اند (Levadoux, 1956). انگورهای وحشی گیاهانی دوجنسه و دو پایه می‌باشند که محیط‌های مرطوب را ترجیح می‌دهند در حالی که انگورهای زراعی یا اهلی شده هرمافرودیت بوده و اغلب به محیط‌های نسبتاً خشک عادت دارند (Grassi et al., 2003). در قرن گذشته بیشتر از مدارک تاریخی در ترکیب با داده‌های آمپلوگرافی برای بررسی منشاء و روابط مابین ارقام مختلف انگور استفاده شده است. امروزه با توسعه روش‌های مولکولی امکان بررسی دقیق‌تر روابط ژنتیکی بین ارقام انگور و ارتباط آنها با ژنوتیپ‌های وحشی فراهم شده است (Karp et al., 1998). نشانگرهای ریزماهواره هسته‌ای و کلروپلاستی به وفور در مطالعات فیلوژنتیک، شناسایی ارقام و پایه‌ها، روابط والد و نتاج، تشخیص هیبریدها، جریان ژنی و فرایند اهلی شدن انگور استفاده شده است (Sefc et al., 2001; Arroyo-Garcia et al., 2002).

روابط ژنتیکی تعدادی از انگورهای زراعی با گل‌های ماده فیزیولوژیک (شبیه انگورهای وحشی) و انگورهای وحشی زیر گونه سیلوستریس مناطق شمالی اسپانیا و جنوب غربی فرانسه با نشانگرهای ریزماهواره‌ای مطالعه گردید. نتایج اختلاف بالایی بین انگورهای وحشی و زراعی را نشان داد. بر اساس این مطالعه گزارش شد که نمونه‌های انگور وحشی اجداد انگورهای زراعی مورد مطالعه نبودند (Carreno et al., 2004).

با استفاده از تجزیه ریزماهواره روابط بین انگورهای وحشی و زراعی سه ناحیه ایتالیا مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج وجود فاصله ژنتیکی بسیار بالا را بین دو دسته انگور نشان داد اما دو رقم انگور موجود در جزیره ساردینیا شباهت بسیار زیادی را با انگورهای وحشی نشان دادند. این دو رقم احتمالا از انگورهای وحشی همان ناحیه حاصل شده‌اند که بر این اساس این ناحیه جز مراکز ثانویه اهلی شدن انگور معرفی شد (Grassi et al., 2003).

همچنین ساختار ژنتیکی ۲۲۲ رقم انگور گونه وینیفرا به همراه ۲۲ نمونه انگور وحشی فرانسه با استفاده از ۸ جایگاه ریزماهواره مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج چند شکلی و هتروزیگوتی بالایی را بین انگورها نشان داد. همچنین رابطه بسیار نزدیکی بین انگورهای شرابی فرانسه و انگورهای وحشی همان کشور گزارش گردید (Aradhya et al., 2003).

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی انگورهای وحشی و مقایسه تنوع آنها با ارقام زراعی در فرانسه از نشانگرهای ریزماهواره‌ای و مورفولوژیکی استفاده شد. داده‌های مولکولی اختلافات بین انگورهای وحشی دو منطقه و همچنین بین انگورهای زراعی و وحشی را به وضوح آشکار کردند (Lacombe et al., 2003).

تمامی انگورهای خوراکی ایران متعلق به گونه وینیفرا می‌باشند. همچنین، دو نوع انگور شامل گونه لابروسکا در شمال کشور و انگورهای وحشی از زیر گونه سیلوستریس در جنگل‌های شمال و مناطق مرطوب دامنه کوههای زاگرس نیز وجود دارند (Sabeti, 1976). در بعضی مناطق انگورکاری ایران در جوار تاکستانها بوته‌های انگور وحشی وجود دارند. این حالت به و ضوح در موکاری‌های شهرستان سردشت و بانه مشاهده شده است که در حاشیه تاکستانهای انگور رشه (سیاه سردشت) تاکهای دو پایه انگور وحشی نیز به صورت ایستاده طبیعی و گاهاً خوابیده حضور دارند. در این مطالعه به منظور بررسی روابط ژنتیکی بین تعدادی از انگورهای زراعی و وحشی ایران از نشانگرهای ریزماهواره هسته ای استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

از ۷۲ رقم انگور زراعی موجود در کلکسیون ایستگاه تحقیقات باغبانی کهریز ارومیه و ۶۵ ژنوتیپ انگور وحشی جمع‌آوری شده از جنگل‌های پیرانشهر، سردشت و بانه (جدول۱) در تجزیه‌های ریزماهواره هسته‌ای استفاده شد. همچنین از پنج نمونه انگور مشهور اروپایی شامل Cabernet sauvignon، Cabernet franch، Chardonnay و Barbera به عنوان انگورهای مرجع استفاده شد.

مطالعات آمپلوگرافی و آمپلومتری براساس

جدول ۱- اسامی ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی انگور مورد مطالعه همراه با جنسیت آنها

رقم	رقم	کد انگور وحشی	منشاء	کد انگور وحشی	منشاء
رزقی	کشمشی سفید	♂P1	پیرانشهر	♂S-SH60	سردشت- شلماش
حسینی	رجین	♂P2	پیرانشهر	♂S-SH61	سردشت- شلماش
تبرزه سفید	سرقوله	♂P3	پیرانشهر	♂-GR33	سردشت- گرژال
قره ملحی	چاوه گا	♂P4	پیرانشهر	♂S-GR34	سردشت- گرژال
سقل سولیان (۲ بوته)	یاقوتی	♂P5	پیرانشهر	♀S-GR35	سردشت- گرژال
ات اوزوم	قره گندمه	♀P6	پیرانشهر	♂S-GR36	سردشت- گرژال
لعل سیاه	گزندایی	♀P7	پیرانشهر	♀S-GR37	سردشت- گرژال
سیاه سردشت	قزل اوزوم	♂P8	پیرانشهر	♂S-GR38	سردشت- گرژال
گرمیان	آق شانی	♀P9	پیرانشهر	♂S-GR39	سردشت- گرژال
مایه مو	جیغ جیغا	♀P62	پیرانشهر	♂SG40	سردشت- قاسمه رش
ریش بابا قرمز	کلکه ریوی	♀P63	پیرانشهر	♀SG42	سردشت- قاسمه رش
طایفی	سیاه معمولی	♀P65	پیرانشهر	♂SG43	سردشت- قاسمه رش
کشمشی قرمز	ساچاخ	♂P10	پیرانشهر	♀SG44	سردشت- قاسمه رش
فخری	شیرازی	♂P11	پیرانشهر	♀SG45	سردشت- قاسمه رش
شاهرودی	انگوتکه	♂P12	پیرانشهر	♂SG46	سردشت- قاسمه رش
قره شانی	موسکات	♀B13	بانه	♀SG47	سردشت- قاسمه رش
صاحبی	دیزماری	♂B14	بانه	♂SG48	سردشت- قاسمه رش
خلیلی سفید	گلین بارماقی	♀B15	بانه	♀SG49	سردشت- قاسمه رش
اینک امجی	اکوزگوزی	♂B16	بانه	♀SG50	سردشت- قاسمه رش
تبرزه قرمز	خلیلی قرمز	♂B17	بانه	♂SG51	سردشت- قاسمه رش
دسترچین	مکه ای	♂B18	بانه	♂SG52	سردشت- قاسمه رش
ریش بابا سفید (۲ بوته)	آبی بالو	♂B19	بانه	♂SG53	سردشت- قاسمه رش
گوی ملکی	موسلی	♀B20	بانه	♀SG54	سردشت- قاسمه رش
سایانی	لابروسکا	♂B21	بانه	♂SG55	سردشت- قاسمه رش
کلاتی	سقل سولیان ۲	♂B22	بانه	♀SG56	سردشت- قاسمه رش
مام برایمه	اورمیه ۶۳	♂S-SH24	سردشت	♂SG57	سردشت- قاسمه رش
بول مازو	رشه	♀S-SH25	سردشت	♀SG58	سردشت- قاسمه رش
لعل قرمز	سوراو	♂S-SH26	سردشت	♀SG59	سردشت- قاسمه رش
سفید شخ شخ	خوشناو	♂S-SH27	سردشت	♂SG64	سردشت- قاسمه رش
قره شیره	زردکه	♂S-SH28	سردشت	♀SG31	سردشت- قاسمه رش
الحقی	کاژاو	♂S-SH29	سردشت	♀SG32	سردشت- قاسمه رش
عسکری اینک امجی	اری قره بیدانه تبریز	♂S-SH30	سردشت	♀S-SH23	سردشت

توصیف‌نامه بانک ژن جهانی (۱۹۹۷) روی ارقام انگور زراعی و وحشی انجام گرفت. در هر مرحله فنولوژی گیاه و بر اساس توصیف‌نامه چندین صفت مهم شامل جنسیت گل، شکل، رنگ، اندازه حبه بررسی شدند.

استخراج DNA

برای استخراج DNA، ۱۰-۵ عدد برگ جوان (۵-۲ سانتی‌متر) از هر نمونه انگور وحشی و زراعی بدون دمبرگ برداشته شدند و پس از اتیکت‌گذاری، در ازت مایع منجمد و به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. استخراج DNA با روش Lodhi et al. (1994) انجام شد.

آنالیز ریزماهواره‌ها

در این بررسی از ۱۹ جفت آغازگر ریزماهواره برای تکثیر DNA استفاده شد. برای تکثیر جایگاه‌های ریزماهواره، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با حجم ۱۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل مرحله اول، واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله دوم ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها به رشته‌های الگو، بسته به نوع آغازگرها در دمای ۶۲-۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، بسط توسط DNA پلیمراز در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و مرحله سوم، بسط نهایی شامل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه بود.

برای تفکیک محصولات PCR از ژل پلی‌اکریلامید واسرشته‌ساز ۶ درصد و رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده

شد. جهت تعیین اندازه نسبی قطعات تکثیری، از آلل‌های پنج رقم انگور مرجع به صورت بارگذاری چند تایی محصول پی‌سی‌آر آنها برای هر نشانگر در طول ژل و استفاده از نشانگر وزن مولکولی، DNA Molecular Weight Marker VIII (0.019-1.11kbp)» از شرکت Roche در دو انتها و وسط ژل استفاده گردید. برای الکتروفورز از دستگاه الکتروفورز عمودی شرکت Bio Rad استفاده شد.

تجزیه آماری

الگوی نواری DNA به صورت وجود (۱) یا عدم وجود نوار (۰) امتیازبندی شدند. برای هر نشانگر، آلل‌ها در ژنوتیپ‌های مورد بررسی به صورت A، B و C نامگذاری و از این طریق فراوانی آللی برای هر جایگاه ریزماهواره برآورد شد. همچنین بر اساس نشانگر وزن مولکولی، اندازه طول هر کدام از نوارها محاسبه گردید و به هر نشانگر بسط داده شد.

برای گروه‌بندی ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی انگور از تجزیه خوشه‌ای با الگوریتم‌های مختلف بر اساس دو نوع ضریب فاصله استفاده شد. ضرایب فاصله مبتنی بر ماتریس وجود و عدم وجود نوارها شامل Number of difference, Juke cantor, P-distance و Kimura 2-parameters بود که با استفاده از نرم‌افزار MEGA3 (Kumar et al., 2004) به انجام رسید. از ضرایب محاسبه شده بر اساس ماتریس فراوانی آللی جایگاه‌های ریزماهواره شامل Nei 73, Nei 83 و Shared alleles با استفاده از نرم‌افزار Power Marker، (Liu, 2002) استفاده شد. دندروگرام‌ها بر اساس ۱۰۰ بار نمونه‌برداری (Bootstrap samples) برای تعیین کارایی روش‌های مورد استفاده انجام گرفت.

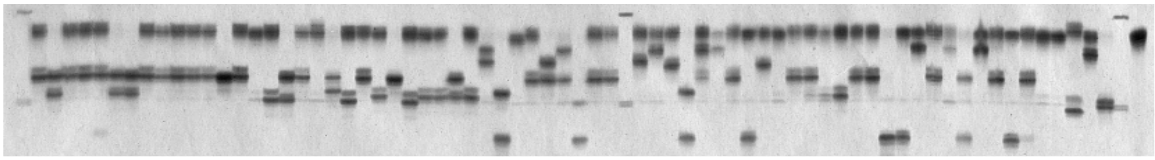
نتایج و بحث

کلیه ۱۹ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای مورد استفاده الگوهای نواری چند شکل را در ارقام انگور تکثیر کردند. الگوی نواری تعدادی از نشانگرهای ریزماهواره در شکل ۱ نشان داده شده است.

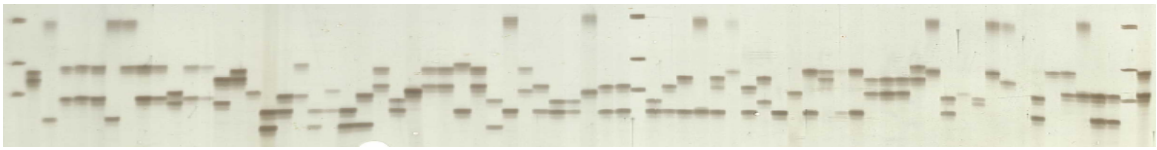
تنوع ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی انگور

بر اساس تجزیه ریزماهواره‌های هسته‌ای، تعداد کل آلل‌های تکثیر شده در ارقام زراعی انگور ۱۶۳ و در انگورهای وحشی ۱۵۳ آلل بود که متوسط آلل در هر جایگاه در ارقام زراعی ۸/۶ و در انگورهای وحشی ۸/۰۵ بود (جدول۲). در ارقام انگور هتروزیگوتی مورد انتظار ۰/۷ و در انگورهای وحشی ۰/۷۳ و هتروزیگوتی مشاهده شده در ارقام زراعی ۰/۷۲ و در انگورهای وحشی ۰/۶۸ بود. سایر پارامترهای ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره در انگورهای وحشی و زراعی در جدول ۲ نشان داده شده است.

مقایسه الگوهای نواری دو گروه انگور تفاوتهایی در ترکیبات آللی و در نتیجه تفاوتهای ژنتیکی در سطوح مختلف بین ارقام زراعی و انگورهای وحشی نشان داد. این تفاوتها در اندازه برخی از آلل‌ها، وجود آلل‌های اختصاصی برای هر گروه و تفاوت در شاخص فراوانی آللی مشاهده شد.



VMC6D12



VMC6G7

شکل ۱- الگوی نواری تعدادی از آغازگرهای ریزماهواره هسته‌ای در ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های انگور

جدول ۲- پارامترهای ژنتیکی نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در بررسی انگورهای وحشی و زراعی

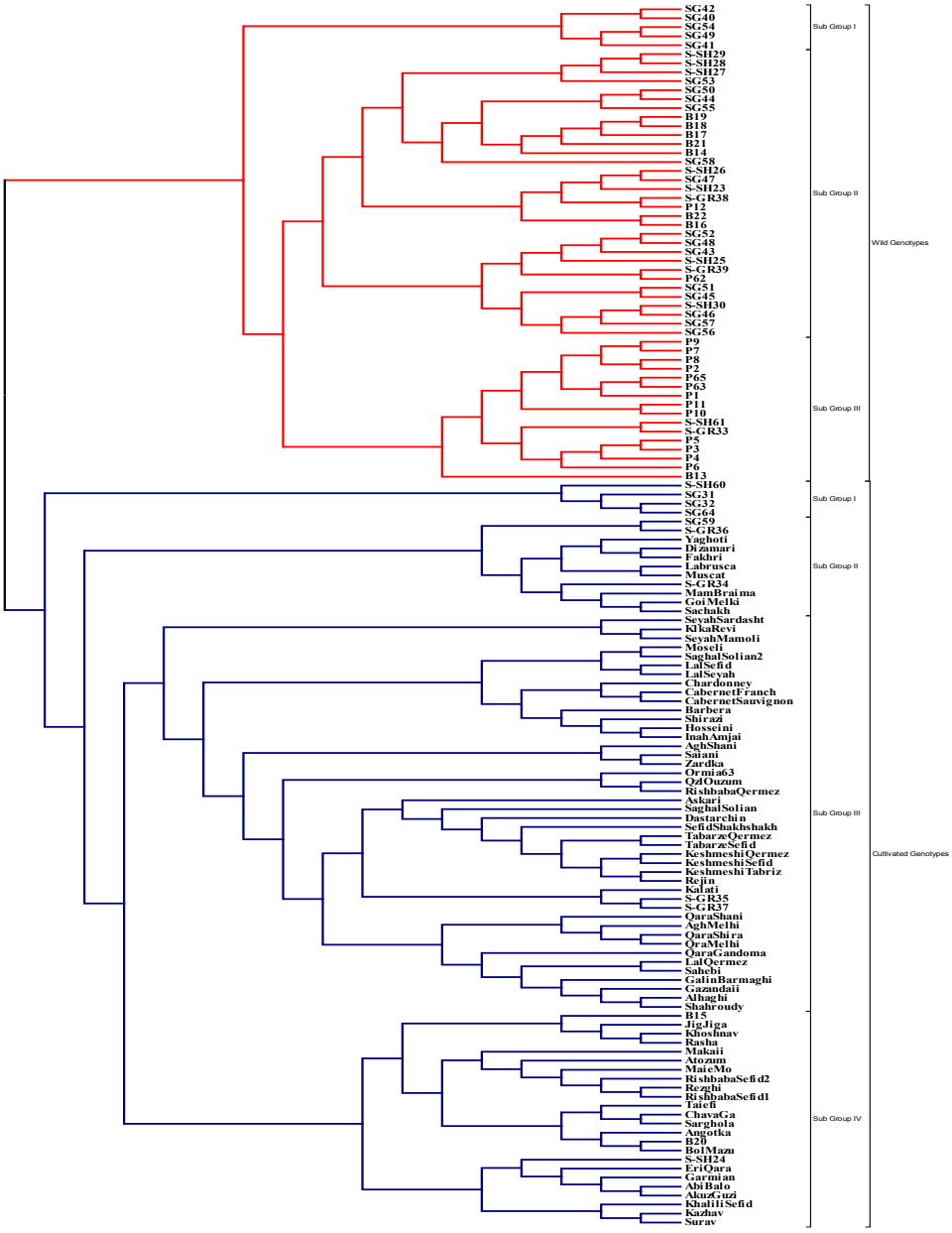
نشانگر	تعداد آلل		فراوانی آلل		هتروزیگوتی مورد انتظار		هتروزیگوتی مشاهده شده		PIC	
	زراعی	وحشی	زراعی	وحشی	زراعی	وحشی	زراعی	وحشی	زراعی	وحشی
SsrVrZAG62	۱۱	۹	۰/۳۹	۰/۳۵	۰/۷۸	۰/۸	۰/۷۵	۰/۷۶	۰/۷۶	۰/۷۸
SsrVrZAG47	۸	۸	۰/۳۴	۰/۳۵	۰/۷۷	/۷۷	۰/۸۹	۰/۶۹	۰/۷۴	۰/۷۴
SsrVrZAG83	۳	۵	۰/۶۸	۰/۶۳	۰/۴۵	۰/۵۳	۰/۲۶	۰/۶۱	۰/۳۷	۰/۴۸
VVMD5	۱۲	۱۳	۰/۲۳	۰/۳	۰/۸۵	۰/۸۳	۰/۷۵	۰/۷۶	۰/۸۳	۰/۸۲
VVMD7	۹	۹	۰/۲۴	۰/۴۵	۰/۸۱	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۵۶	۰/۷۹	۰/۷۱
VVMD8	۱۴	۱۳	۰/۲۷	۰/۱۴	۰/۸۴	۰/۹	۰/۸۸	۰/۹	۰/۸۲	۰/۸۹
VVMD17	۵	۵	۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۵۳	۰/۵۵	۰/۴۸	۰/۶۳	۰/۴۶	۰/۵۱
VVMD21	۵	۳	۰/۵۱	۰/۵۴	۰/۶۳	۰/۵۸	۰/۷۶	۰/۶	۰/۵۷	۰/۵۱
VVMD25	۸	۸	۰/۲۶	۰/۲۳	۰/۷۸	۰/۸۳	۰/۶۸	۰/۷۳	۰/۷۴	۰/۸۱
VVMD27	۸	۷	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۷۵	۰/۷۶	۰/۷۹	۰/۶۱	۰/۷۱	۰/۷۳
VVS2	۱۴	۹	۰/۱۸	۰/۲۲	۰/۸۷	۰/۸۵	۰/۹۷	۰/۷۵	۰/۸۶	۰/۸۳
VVS3	۲	۴	۰/۵۶	۰/۶	۰/۴۹	۰/۵۴	۰/۶۵	۰/۴۷	۰/۳۷	۰/۴۷
VVS4	۶	۷	۰/۶۴	۰/۵۸	۰/۵۳	۰/۵۸	۰/۵۹	۰/۴۴	۰/۴۹	۰/۵۳
ISV2	۱۱	۹	۰/۳۹	۰/۲۵	۰/۷۹	۰/۸۲	۰/۷۵	۰/۶۶	۰/۷۷	۰/۷۹
ISV3	۵	۸	۰/۴	۰/۲۲	۰/۶۵	۰/۸۳	۰/۸۳	۰/۷۸	۰/۵۹	۰/۸۱
ISV4	۶	۱۰	۰/۳	۰/۳۵	۰/۷۶	۰/۸۱	۰/۶۸	۰/۷۶	۰/۷۳	۰/۷۹
VMC6D12	۱۲	۱۰	۰/۳۸	۰/۲۷	۰/۷۶	۰/۸۳	۰/۸۹	۰/۸۳	۰/۷۳	۰/۸۱
VMC6G7	۱۵	۱۲	۰/۱۹	۰/۲۹	۰/۸۹	۰/۸۴	۰/۸۸	۰/۹۲	۰/۸۸	۰/۸۲
VMC6G10	۹	۴	۰/۴۶	۰/۵۷	۰/۶۳	۰/۵۹	۰/۵	۰/۶	۰/۵۶	۰/۵۳
میانگین	۸/۶	۸/۰۵	۰/۳۹	۰/۳۸	۰/۷	۰/۷۳	۰/۷۲	۰/۶۸	۰/۶۷	۰/۷

گروه‌بندی ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی انگور

برای گروه‌بندی توام انگورهای زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی از تجزیه خوشه‌ای بر اساس الگوریتم Neighbor-Joining و ضرایب مبتنی بر فراوانی‌های آللی و وجود و عدم وجود آلل‌ها استفاده شد. در بین روش‌های مبتنی بر فراوانی آللی ضریب فاصله Shared allele روابط مناسبی را بین نمونه‌ها ارایه کرد. با برش دندروگرام با حداکثر فاصله بین گروه‌ها، ۵ گروه حاصل شد (شکل۲). گروه‌های اول و دوم فقط شامل انگورهای وحشی بودند و هیچ انگور زراعی در این گروه قرار نگرفت. در گروه سوم انگورهای زراعی به همراه سه نمونه انگور وحشی قرار گرفتند. گروه‌های چهارم و پنجم نیز حداکثر انگورهای زراعی را همراه با چند انگور وحشی تشکیل دادند. در این گروه‌بندی تشابه ژنتیکی بالایی بین انگور وحشی پایه ماده B20 و انگورهای زراعی بول مازو و انگوتکه مشاهده شد. در این گروه همچنین انگور رشه و کلون آن،خوشناو (Doulati et al., 2010)، با انگور وحشی ماده B15 رابطه نزدیکی نشان دادند.

بوته انگور با نام ارومیه ۶۳ با گل‌های هرمافرودیت، میوه‌های سیاه، ریز و ترش مزه، که به صورت خودرو در کنار رودخانه‌ای در دره شهدا نمونه‌برداری شده بود، از نظر خصوصیات مورفولوژیکی بسیار شبیه به انگورهای وحشی بود اما در این گروه‌بندی نزدیکی ژنتیکی با انگورهای وحشی نشان نداد.

در بین ضرایب مبتنی بر وجود یا عدم وجود آلل‌ها، دندروگرام حاصل از ضریب Juke cantor برای گروه‌بندی توام انگورهای زراعی و وحشی استفاده شد (شکل ۳). در این گروه‌بندی، دو گروه اصلی شامل انگورهای وحشی و زراعی ایجاد شد. گروه اول شامل انگورهای زراعی بود که در آن چندین نمونه وحشی با نام‌های SGR35، SGR37، SGR36، B-20، SGR34 و B15 جای گرفتند که تشابهات آنها همانند گروه‌بندی اول بود. در این گروه نیز ارتباط نزدیکی بین انگور زراعی بول مازو و ژنوتیپ وحشی B20 دیده شد. این دو نمونه متعلق به منطقه بانه بوده و از لحاظ جنسیت گل هر دو ماده با پرچم واژگون می‌باشند ولی میوه بول مازو درشت با رنگ زرد مایل به سبز می‌باشد در حالی که نوع وحشی دارای میوه ریز سیاه رنگ می‌باشد. در گروه دوم چند رقم انگور زراعی به نامهای خلیلی سفید، سوراو و کاژاو همراه با بقیه انگورهای وحشی قرار داشتند. این ارقام زراعی



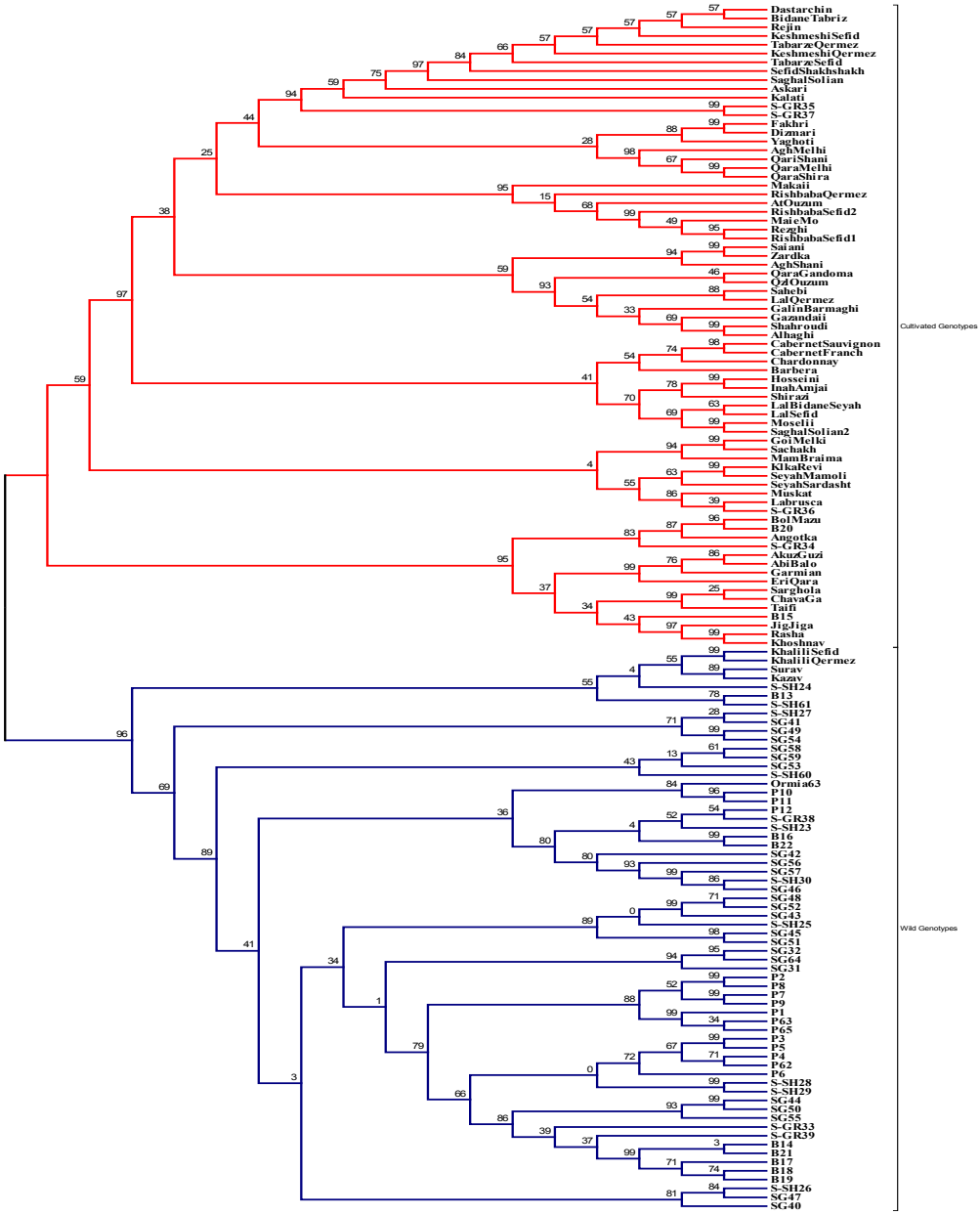
شکل ۲- گروه بندی انگورهای زراعی و وحشی مورد مطالعه با استفاده از داده‌های ریزماهواره و بر اساس الگوریتم Neighbor-Joining با ضریب Shared allel

رابطه نزدیکی با سه انگور وحشی S-SH24، S-SH61 (هر دو نر) و انگور ماده B13 نشان دادند. دو رقم سوراو و کاژاو بومی منطقه بانه و دارای میوه‌های رنگی، گرد وکوچک ولی با گل‌های هرمافرودیت می‌باشند. بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه مکانهای ریزماهواره در این تحقیق می‌توان استنباط کرد که به غیر از چند رقم بومی منطقه بانه و سردشت ارتباط ژنتیکی بالایی بین جمعیت‌های وحشی و ارقام انگور مشاهده نشد. ظاهراً این ارقام انگور مورد بررسی، با استثناء نمودن انگورهای بومی جنوب استان آذربایجان غربی، منشاء متفاوتی با انگورهای وحشی دارند. بر این اساس می‌توان اظهار داشت که طی زمان‌های بسیار قدیم ارقام زراعی به این ناحیه وارد شده‌اند و یا اینکه اجداد اولیه، که انگورهای زراعی این مناطق از آنها حاصل شده‌اند، در طی زمان از بین رفته‌اند.

بر اساس تجزیه نشانگرهای ریزماهواره کلروپلاستی گزارش شده که هاپلوتیپ اغلب ارقام بومی انگور موجود در جنوب استان آذربایجان غربی (پیرانشهر و سردشت)

و کردستان (بانه) شبیه هاپلوتیپ‌های موجود در انگورهای وحشی همان مناطق بود در حالی که هاپلوتیپ سایر ارقام زراعی ایران، از جمله انگور تجاری بیدانه سفید، در بین ژنوتیپ‌های وحشی این مناطق یافت نشد (Doulati Baneh et al., 2007).

در مطالعه انجام شده توسط Lacombe et al. (2003) انگورهای وحشی زیر گونه سیلوستریس با ارقام انگور شرابی فرانسه در یک گروه قرار گرفتند. تعدادی از ارقام شرابی صفات مشابهی با انگورهای وحشی مانند شکل و رنگ حبه‌ها، اندازه حبه و خوشه و کرکهای برگی را دارا بودند. آنها این ارتباط را ناشی از تلاقی اتفاقی بین این دو گروه انگور در طبیعت دانستند. در بررسی روابط ژنتیکی بین ارقام انگورهای وینیفرا و انگورهای وحشی زیرگونه سیلوستریس مناطق اسپانیا و جنوب غربی فرانسه از طریق نشانگرهای ریزماهواره تشابه ژنتیکی در محدوده بین ۰/۵ تا ۰/۵۸ گزارش گردید ولی در این مطالعه روابط والدی تعیین نگردید (Carreno et al., 2004).



شکل ۳- گروه بندی انگورهای زراعی و وحشی مورد مطالعه با استفاده از داده‌های ریزماهواره و بر اساس الگوریتم Neighbor-Joining با ضریب Juke cantor

در مطالعه ما انگور وحشی S-GR34 تشابه ژنتیکی نزدیکی با سه رقم مام برایمه، گوی ملکی و ساچاخ نشان داد. این سه رقم هر سه جزء انگورهای ماده با پرچم واژگون می‌باشند. بر اساس داده‌های حاصله از ۶ جایگاه ریزماهواره‌ای، دو رقم انگور موجود در جزیره ساردینیای ایتالیا تشابه بسیار نزدیکی (۵۰ درصد آلل سهیم شده) با تعدادی از انگورهای وحشی همان منطقه داشتند. این نشان می‌دهد که این دو رقم از انگورهای وحشی منطقه منشاء گرفته‌اند (Grassi et al., 2003). در حالی که طی مطالعه‌ای با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره هسته و کلروپلاستی رابطه ژنتیکی قوی بین ارقام زراعی و وحشی تونس پیدا نشد و بیان گردید که انگورهای زراعی از جمعیت‌های انگور وحشی آن ناحیه منشاء نگرفته‌اند (Snoussi et al., 2004).

ایران و بویژه دامنه زاگرس به عنوان مناطق اولیه اهلی شدن انگور در جهان گزارش شده است (McGovern, 2003). تعداد ارقام انگور ایرانی در حدود ۸۰۰ رقم می‌باشد که اجداد آنها هنوز مشخص نیست (Doulati Baneh et al., 2007). بر این اساس، پیش‌بینی می‌شد که ارتباطات زیادی بین انگورهای وحشی و زراعی در این مناطق دیده شود. ولی بر خلاف انتظار اغلب ارقام و ژنوتیپ‌های وحشی انگور ایرانی در دو گروه متفاوت و جدا از هم قرار گرفتند و فقط ارتباط بسیار کمی بین تعدادی از ارقام و نمونه‌های وحشی دیده شد. این ارتباط می‌تواند یا به دلیل ارتباطات فامیلی، یا دورگ‌گیری بین ارقام بومی و وحشی و یا انتقال ارقام بومی به مناطق جنگلی توسط عوامل مختلف مانند پرندگان و اشتباه در شناسایی آنها به عنوان انگور وحشی بوده باشد. به هر حال بر اساس یافته‌های محققان مختلف، انگورهای شرابی اولین انگورهای اهلی شده از نوع وحشی بوده‌اند (Ocete et al., 2002) و این احتمال وجود دارد که اغلب اجداد اولیه انگور وحشی و ارقام شرابی قدیمی نیز در ایران در طی زمان از بین رفته باشند و یا اینکه انگورهای وحشی اجدادی به دلایل متعددی اکنون موجود نمی‌باشند. ژنوم انگورهای وحشی موجود در حال حاضر در ایران بواسطه دوپایه بودن و انجام تلاقی‌های طبیعی بین خود و تلاقی با ارقام زراعی دستخوش تغییرات شده‌اند. مطالعه حاضر فقط در تعدادی محدود ارقام انگور و در منطقه‌ای کوچک از پراکندگی ژنوتیپ‌های وحشی به انجام رسید. با توجه به تنوع بالای ارقام انگور ایرانی و همچنین وجود جمعیت‌های انگور وحشی در شمال و شمال غرب ایران لزوم مطالعات ژنتیکی بیشتر به منظور یافتن روابط احتمالی بین این دو گروه انگور احساس می‌گردد.

REFERENCES

1. Aradhya, M. K., Dangl, G. S., Prins, B. H., Boursiquot, J. M., Walker, M. A., Meredith, C. P. & Simon, C. J. (2003). Genetic structure and differentiation in cultivated grape, *Vitis vinifera* L. *Genetical Research*, 81, 179–192.
2. Arroyo-Garcia, R., Lefort, F., Ibanez, J., Borrego, J., Jouve, N., Cabello, F. & Martinez-Zapater, J. M., (2002). Chloroplast microsatellite polymorphism in Vitis species. *Genome*, 45(6), 1142-1149.
3. Carreno, E., Lopez, M. A., Labra, M., Rivera, D., Sancha, J., Ocete, R. & Martinez de Toda, Y. F. (2004). Genetic relationship between some Spanish *Vitis vinifera* L. subsp. sativa cultivars and wild grapevine populations (*Vitis vinifera* L subsp. silvestris (Gmelin) Hegi): a preliminary study. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 137, 42-45.
4. Doulati Baneh, H., Mohammadi, S. A., Labra, M., Nazemieh, A., De Mattia, F. & Mardi, M. (2007). Chloroplast microsatellite markers to assess genetic diversity in wild and cultivated grapevines of Iran. *Pakistan Journal of Biological Science*, 10(11), 1855-1859
5. Doulati Baneh, H., Grassi, F., Mohammadi, S.A., Nazemieh, A., De Mattia, F., Imazio, S. & Labra, M. (2007). The use of AFLP and morphological markers to study Iranian grapevine germplasm to avoid genetic erosion. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 82, 745-752.
6. Doulati Baneh, H., Mohammadi, S. A. & Hassani, Gh. (2010). Molecular analysis of synonyms and genetic relationship within Iranian grapevine cultivars in west Azarbaijan province. 26-1(3): 517-529 (In Farsi).
7. Grassi, F., Labra, M., Imazio, S., Spada, A., Sgorbati, S., Scienza, A. & Sala, F. (2003). Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theoretical and Applied Genetic*, 107, 1315-1320.
8. Karp, A., Issac, P. & Ingram, D. (1998). *Molecular tools for screening biodiversity*. 1st edition. Chapman

& Hall, London, UK. 528pp.
9. Kumar, S., Tamura, K. & Nei, M. (2004). MEGA3. Integrated software for molecular evolutionary genetic analysis and sequence alignment. *Briefing in Bioformatics*, 5, 150-163.
10. Labra, M., Failla, O., Forni, G., Ghani, A., Scienza, A. & Sala, F. (2002). Microsatellite analysis to define genetic diversity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) grown in central and western Mediterranean countries. *Journal of Inernational Vigne Vinome*, 36(1), 11-20.
11. Lacombe, T., Laucou, V., Di Vacchi, M., Bordenave, L., Bourse, T., Siret, R. & This, P. (2003). Inventory and characterization of *Vitis vinifera* ssp. Silvestris in France. *Acta Horticulturae*, 603, 553-559.
12. Levadoux, L. D. (1956). Wild and cultivated populations of *Vitis vinifera* L. *Annales de l'Amelioration des Plantes*, 6, 59–118.
13. Liu, J. (2002). *Power Marker V3.0 Manual*. Retrieved June, 5, 2005 from http://WWW.powermarker.net
14. Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F. & Reisch, B. I. (1994). A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, Vitis species and Ampelopsis. *Plant Molecular Biology Report*, 12(1), 6-13.
15. Mc Govern, P. E. (2003). *Ancient wine: the search of the origin of viticulture Princeton*. University Press, New Jersey.
16. Ocete, R., Canto, M., Lopez, M. A., Gomez, I. & Troncoso, A. (2002). Wild grapevine populations in the Ossa-Morena Mountain range (Portugal-Spain): Location, characterization and sanitary state. *Vitis*, 41(1), 55-56.
17. Sabeti, H. (1976). *Forests, trees and shrubs of Iran*. Agriculture and natural resources research organization press, Iran. (In Farsi).
18. Sefc, K. M., Lefort, F., Grando, M. S., Scott, K. D., Steinkellner, H. & Thomas, M. R. (2001). Microsatellite markers for grapevine: A state of the art. In: Roubclakis-Angelakis, K.A. (Ed). *Molecular biology and biotechnology of grapevine*. Kluwer Academic Publishers, the Netherland. (pp. 1-30).
19. Snoussi, H., Harbi ben Slimane, M., Ruiz-Garcia, L., Martinez-Zapater, J. M. & Arroyo-Garcia, R. (2004). Genetic relationship among cultivated and wild grapevine accessions from Tunisia. *Genome*, 47, 1211-1219.
20. Zohary, D. & Hopf, M. (1993). *Domestication of plants in the old world*. Oxford, Clarendon Press. P.143-150.