مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۵ شماره ۱ صفحه‌های ۲۵ تا ۴۶ (۱۴۰۳)
مقاله پژوهشی

شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا در برخی گونه‌های مرکبات با استفاده از تکنیک SSR

Identification of Nucellar and Zygotic Seedlings in Some *Citrus* Species Using SSR Technique

محمدطاهر حلاجیان*[۱]، کتایون دباغ[۲]، مجتبی کردرستمی[۱]، علی اکبر قاسمی سلوکلوئی[۱]

۱. پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران کرج، ایران.

۲. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، کرج، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (mthallajian@aeoi.org.ir)

تاریخ دریافت: ، تاریخ پذیرش:

چکیده

بیشتر گونه‌های جنس *Citrus* و برخی جنس‌های نزدیک در این تیره رویان خورشی تولید می‌کنند. وجود چنین رویان‌هایی در کنار رویان‌های حاصل از لقاح، منجر به پدیده چند رویانی می‌شود که طی آن همزمان دو یا چند رویان در یک بذر توسعه می‌یابند. در این مطالعه، جهت تمایز دانهال‌های حاصل از لقاح از دانهال‌های خورشی، از گیاهان مادری و دانهال‌های حاصله از بذرهای یازده نمونه مرکبات، نمونه‌های برگی تهیه گردید. پس از استخراج DNA از نمونه ها، PCR با ۸ جفت آغازگر ریزماهواره‌ای انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که هشت جفت آغازگر برای صفت خورشی یا زایگوتی (تخم‌زا) بودن دانهال ها در نه رقم، چندشکلی نشان دادند. تعداد کل آلل‌ها در جمعیت ۴۶ آلل و دامنه تعداد آلل بین ۳-۱۱ با میانگین ۵/۷۵ بود. تعداد ۳۵ آلل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن چند شکل بودند. از بین آغازگرهای چندشکل، آغازگر TAA41 بیشترین تعداد آلل (۱۱) و آغازگرهای TAA27 و TAA1 کمترین تعداد آلل (۳) را در نمونه‌های مورد مطالعه تولید کردند. از آغازگرهای چندشکل این پژوهش بویژه TAA45 و TAA33 می‌توان برای شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زای کلیه نژادگان‌ها و دورگه‌های ارقام مرکبات در برنامه‌های به‌نژادی مختلف بهره برد.

واژه‌های کلیدی: مرکبات، دانهال‌های خورشی و تخم‌زا، PCR، نشانگرهای ریزماهواره، آغازگر.

مقدمه

مرکبات (*Citrus*) از تیره Rutaceae و زیرتیره Aurantioidae می‌باشد که در این زیرخانواده، ارقام مختلف پرتقال و نارنگی وجود دارند. اصلاح ژنتیکی گونه‌های مرکبات از طریق روش‌های اصلاحی مرسوم با مشکلاتی نظیر دوره نونهالی طولانی، هتروزیگوسیتی بالا، اندازه بزرگ گیاه و چند رویانی خورشی مواجه می‌باشد (Gmitter *et al.*, 1992). بیشتر ارقام مرکبات دارای صفت چند رویانی هستند که باعث ایجاد تعداد زیادی رویان همراه با یک رویان تخم‌زا در یک بذر از طریق آپومیکسی اسپوروفیتی[۱] ایجاد می‌شود. این ویژگی گیاه‌شناسی منحصربه‌فرد به اصلاح ژنتیکی مرکبات از طریق دورگ‌گیری اشاره دارد و تأثیر مستقیمی بر کارایی و هزینه‌های به‌نژادی دارد (Woo *et al.*, 2019). رویان‌های خورشی به روش غیرجنسی با تقسیم میتوزی نرمال یاخته‌های خورش ایجاد می‌شوند و هیچ گامتی در تشکیل شان دخالت ندارد، لذا گیاهچه‌های خورشی کاملاً شبیه والد بذری خود هستند (Frost, 1943).

۱- Sporophytic apomixis

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

از طرفی، بسیاری از ارقام چند رویانی نظیر پرتقال سیاورز[1] و نارنج[2] و چند رقم دیگر در برنامه های اصلاح مرکبات ایران استفاده شده‌اند. از اینرو، استفاده از روش‌هایی برای شناسایی دانهال‌های خورشی از تخم‌زا بسیار ضروری است. روش‌های مختلفی از جمله مورفولوژیکی، کروماتوگرافی و ایزوآنزیمی را برای شناسایی هیبریدهای مختلف مرکبات استفاده کرده‌اند، ولی هیچکدام از این روش‌ها، قادر به شناسایی نهال‌های خورشی از تخم‌زا حقیقی نیستند (Ruiz *et al.*, 2000 و Tusa *et al.*, 2002). نشانگرهای ژنتیکی ابزارهای بسیار کاراتر و قدرتمندتری برای شناسایی رقم، ارزیابی‌های تنوع و فیلوژنتیکی و شناسایی دانهال خورشی از تخم‌زا هستند (Novelli *et al.*, 2000، Pang *et al.*, 2003 و Golein *et al.*, 2005). از بین نشانگرهای ژنتیکی موجود، ریزماهواره ها (SSRs) بدلیل همبارز بودن آلل‌های آشکارسازی شده، تنوع بالا، پراکنش وسیع در ژنوم و از همه مهمتر به علت تکرارپذیری بالا، بطور گسترده‌ای استفاده می‌شوند. Golein و همکاران (۲۰۰۵)، از نشانگرهای SSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی پرتقال‌های شیرین[3] و نارنگی‌های ماندارین[4] استفاده کردند. همچنین، در بررسی دیگری Golein و همکاران (۲۰۱۱) از نشانگرهای ISSR برای شناسایی نهال‌های خورشی از تخم‌زا در تلاقی‌های بین گونه‌ای بهره بردند. در تحقیقات آنها برای شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا از نشانگرهای غالب ISSR و ژل آگارز استفاده شد و در نتیجه، امکان شناسایی آلل‌های هتروزیگوت ناممکن بود. بعلاوه، برای آشکارسازی آلل‌های هتروزیگوت SSR مرتبط با خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها که غالباً باندهای کوچکی می‌باشند، باید از ژل‌های اکریل آمیدی استفاده نمود.

علاوه‌براین، Golein و همکاران (2005)، تنوع ژنتیکی هشت نمونه پرتقال شیرین و شش نمونه نارنگی ماندارین را با استفاده از هفت جفت آغازگر SSR ارزیابی نموده و ۵۲ آلل چندشکل را آشکارسازی کردند. Golein و همکاران (۲۰۱۱)، ۲۲۷ دانهال حاصل از تلاقی بین رقم یاشار بعنوان والد مادری و پنج رقم پیج، چانگشا، پونکان، مارس و هاملین را با استفاده از آغازگرهای مختلف ISSR بررسی کرده و ۶۷ دانهال هیبرید و ۱۶۰ دانهال خورشی را شناسایی کردند. Scarano و همکاران (۲۰۰۳)، پنج نژادگان تخم‌زا بوسیله آغازگرهای SSR و چهار نژادگان تخم‌زا با استفاده از آغازگرهای AFLP، بین ۱۴ دیپلوئید حاصل از تلاقی سیبریدهای لیموی فمینلو و یک کلون دیپلوئید لیموی فمینلوی متحمل به بیماری قارچی malsecoo را شناسایی کردند. Navaro-Garcia و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که چهار SNP مربوط به دو ناحیه کدکننده و دو ناحیه غیرکدکننده، گیاهان هیبرید را از گیاهان خورشی لیموی اسپانیایی تشخیص می‌دهند. Kianoush و همکاران (۲۰۰۹)، ۵۴ آلل را در ۹ جایگاه ریزماهواره در ۴۶ نژادگان مورد بررسی آشکارسازی کردند. بطوریکه جایگاه CAC33 با ۹ آلل، بیشترین و TAA17 با ۴ آلل کمترین تعداد آلل را در بین نشانگرها نشان دادند. همچنین، Woo و همکاران (۲۰۱۹) در تلاش برای اصلاح هدف‌مند و سیستماتیک مرکبات، ۱۰۱ منبع ژنتیکی مرکبات را جمع‌آوری کردند. آن‌ها متوجه شدند که از این تعداد، ۲۲ نژادگان تک رویان، ۵۴ نژادگان چند رویان و ۲۵ نژادگان ترکیبی بودند. آنها همچنین ۱۷ نشانگر SSR را ایجاد کردند که چندشکلی (با ۱۸۱ آلل) بین منابع ژنتیکی را به خوبی نشان می‌داد و امکان تحلیل ژنوم مقایسه‌ای را فراهم می‌کرد. Martinez-Ochoa و همکاران (۲۰۲۲)، دانهال‌های خورشی مشابه با والد مادری را در ۵ رقم مرکبات با استفاده از ۱۷ آغازگر SSR مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی، ۵ رقم مرکبات شامل سیترنج C35، لیموی ولکامر، نارنگی ماندارین آمبلیکارپا، نارنگی تانجلو مینولا و پرتقال والنسیا سطوح بالایی از چند رویانی را نشان دادند. بویژه اینکه مارتینز-آکوا و همکارانش دریافتند که بزرگترین دانهال، همیشه خورشی نیست.

مرکبات، یکی از مهم‌ترین گروه‌های گیاهی در جهان هستند که به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و خواص درمانی متعدد، نقش بزرگی در رژیم غذایی انسان دارند. این گروه از گیاهان شامل تعداد زیادی از گونه‌ها، ارقام و هیبریدها است که دارای ویژگی‌های متفاوتی از جمله دانه‌های خورشی و تخم‌زا هستند. شناسایی و تفکیک این ویژگی‌ها در گونه‌های مختلف مرکبات، می‌تواند به بهبود کیفیت محصولات، افزایش تولید و ارتقاء صنعت باغداری کمک کند. با این حال، شناسایی دقیق و سریع این ویژگی‌ها با استفاده از روش‌های سنتی گیاه‌شناسی چالش‌برانگیز است. در این زمینه، استفاده از فنون مولکولی مانند نشانگرهای ریزماهواره (SSR) می‌تواند راه حلی کارآمد باشد. نشانگرهای SSR به دلیل تکرار بالا در ژنوم، پایداری وراثتی بالا و

۱- *Citrus sinensis*, var. Siavaraz ۲- *Citrus aurantium* ۳- *Citrus sinensis* (L.) Osbeck ۴- *C. reticulata* Blanco

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

توزیع گسترده در سراسر ژنوم، ابزاری قدرتمند برای شناسایی و تفکیک ویژگی‌های ژنتیکی در گونه‌های مختلف مرکبات هستند. بنابراین، این تحقیق با هدف شناسایی دانه‌های خورشی و تخم‌زا در برخی از گونه‌های مرکبات با استفاده از تکنیک SSR انجام شده است. این تحقیق می‌تواند به فهم بهتر تنوع ژنتیکی در مرکبات، بهبود برنامه‌های اصلاح نژادی و در نهایت، افزایش کیفیت و کمیت محصولات مرکبات کمک کند.

مواد و روش ها

مواد گیاهی و محل انجام پژوهش

برای شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا گونه‌های مختلف مرکبات با استفاده از تکنیک مولکولی SSR، کلیه آزمایشات در آزمایشگاه علوم مولکولی پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای- کرج انجام شد. جهت استخراج DNA، از برگ‌های ۱۱ رقم مادری مختلف مرکبات واقع در مرکز تحقیقات نیمه گرمسیری رامسر نمونه‌برداری گردید. سپس، بذور میوه‌های این ارقام در گلخانه پژوهشی پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای کرج کاشته و پس از جوانه‌زنی، از دانهال‌های حاصل از آنها هم نمونه برداری شد. به‌طور کلی، ۲۸ نمونه برگی در این پژوهش مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱).

جدول۱- فهرست ارقام مورد مطالعه و وضعیت دانهال‌های تولید شده.

Table 1. List of studied cultivars and situation of produced seedlings.

ردیف No.	نام ارقام مادری Namo of maternal cultivars	دانهال‌های تولید شده از بذور ارقام مادری* Seedlings produced from seeds of maternal cultivars	
		تک رویان Mono-embryo	چندرویان ** Poly-embryo
۱ 1	پرتقال والنسیا Valencia Orange	−	+
۲ 2	پرتقال خونی Blood orange	+	−
۳ 3	پرتقال سیاورز Siavarz orange	−	+
۴ 4	پرتقال هاملین Hamlin orange	+	−
۵ 5	دارابی Pomelo	+	−
۶ 6	پرتقال تامسون ناول Thomson Navel orange	+	−
۷ 7	نارنگی کلمانتین Clementine Tangerine	+	−
۸ 8	لیمو ترش Lime	−	+
۹ 9	نارنج Sour orange	−	+
۱۰ 10	پرتقال واشنگتن Washington orange	−	+
۱۱ 11	نارنگی یونسی Puncan tangerine	−	+

* این دانهال‌ها پس از کاشت بذور ارقام مادری، به صورت تک رویان یا چند رویان (بین ۱ تا ۴ دانهال) رشد کردند. ** این دانهال‌ها پس از کاشت بذور ارقام مادری، به صورت ۲، ۳ تا ۴ نهال در یک بذر رشد کردند.

* These seedlings grow as mono-embryo or poly-embryo (1 to 4) after sowing seeds of maternal cultivars. ** These seedlings grow as 2, 3 and 4 embryo after sowing seeds of maternal cultivars.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

نمونه‌برداری و استخراج DNA

استخراج DNA به روش Cheng و همکاران (۲۰۰۳)، از برگ های تازه و جوان انجام شد. تعیین کمیت و کیفیت DNA به دو روش اسپکترومتری و ژل آگارز ۰/۷ درصد انجام گرفت. برای رؤیت و عکسبرداری نمونه‌های DNA و فرآورده‌های PCR، از دستگاه Gel Doc استفاده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر شرکت Bio-Rad ۹۶ چاهکه، در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گردید. این مخلوط شامل ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۰/۱ میلی‌مولار dNTPs، ۰/۲ میکرومولار از هر آغازگر، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR، ۲ میلی‌مولار کلرید منیزیم و یک واحد آنزیم Taq DNA پلیمراز بود.

جفت آغازگرها، از مقالات Kianoush و همکاران (۲۰۰۹)، Golein و همکاران (۲۰۰۵)، Scarano و همکاران (۲۰۰۳) و Ruiz و همکاران (۲۰۰۰) انتخاب و توسط شرکت آلمانی Eurofins MWG operon سنتز شدند. در جدول ۲، نام آغازگرهای مستقیم و معکوس استفاده شده در این پژوهش و توالی نوکلئوتیدی آنها مشخص شده است.

جدول۲- نام آغازگرهای مستقیم و معکوس مورد استفاده در این پژوهش و توالی‌های نوکلئوتیدی آنها.

Table 2. Name of forward and reverse primers used in this research and their nucleotide sequences.

توالی نوکلئوتیدی Nucleotide Sequence	جفت آغازگرها Primer pairs
GGTACTGATAGTACTGCGGCG	TAA 33F
GCTAATCGCTACGTCTTCGC	TAA 33R
AGAGAAGAAACATTTGCGGAGC	TAA 3F
GAGATGGGACTTGGTTCACACG	TAA 3R
AGGTCTACATTGGCATTGTC	TAA 41F
ACATGCAGTGCTATAATGAATG	TAA 41R
ATCACAATTACTAGCAGCGCC	CAC 23F
TTGCCATTGTAGCATGTTGG	CAC 23R
TAAATCTCCACTCTGCAAAATG	CAC 15F
GATAGGAGGCGTCGTAGACCC	CAC 15R
GGATGAAAAATGCTCAAAATG	TAA 27F
TAGTACCCACAGGGAAGAGAGC	TAA 27R
GCACCTTTTATACCTGACTCGG	TAA 45F
TTCAGCATTTGAGTTGGTTACG	TAA 45R
GACAACATCAACAACAGCAAGAGC	TAA 1F
AAGAAGAAGAGCCCCCATTAGC	TAA 1R

از آنجایی‌که درجه حرارت اتصال عامل مهمی در اختصاصی بودن واکنش است، لذا قبل از انجام عملیات PCR، دمای ذوب[۱] (Tm) هر آغازگر تعیین شد. بسته به طول ترکیب آغازگری و نوع و تعداد بازهای موجود در توالی‌های هر ترکیب آغازگری، درجه حرارت اتصال از ۵۵ تا ۶۵ درجه سلسیوس متغیر بود. عملیات PCR با یک واسرشته‌سازی اولیه در ۹۶ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه آغاز و با ۳۴ چرخه شامل ۱ دقیقه واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سلسیوس، ۱ دقیقه اتصال در ۵۵-۶۵ درجه سلسیوس بسته به توالی‌های ترکیب آغازگری و ۲ دقیقه بسط در ۷۲ درجه سلسیوس ادامه یافت. نهایتاً، یک مرحله بسط نهایی ۵ دقیقه‌ای در ۷۲ درجه سلسیوس به برنامه PCR افزوده شد.

ژل الکتروفورز

آلل‌های ریزماهواره تفاوت‌هایی در حد چند جفت باز دارند و امکان جداسازی و تفکیک آن‌ها از یکدیگر با استفاده از ژل الکتروفورز افقی و ژل آگارز به روش معمول وجود ندارد. بنابراین، پس از تکثیر DNAی هدف توسط واکنش زنجیره‌ای

۱- Melting temperature

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

پلیمراز، محصولات PCR، بر روی ژل اکریلامید ۶ درصد بارگذاری شدند. برای بررسی و مشاهده محصولات PCR از رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده شد. عکسبرداری از ژل‌ها با استفاده از دستگاه GEL DOC شرکت Bio-Rad انجام شد.

نحوه امتیازدهی به باندها و محاسبه اندازه و تعداد آلل‌ها

برای به دست آوردن اندازه آلل‌ها و تعیین انواع آلل‌ها، با استفاده از تصاویر اسکن شده، اندازه و انواع آلل‌ها تعیین شد. با استفاده از نوارهایی که از لدر ۵۰ bp تجارتی فرمنتاز به‌دست آمد، اندازه باندها تخمین زده شد. در مرحله بعد، باندها بر اساس شباهت یا نداشتن شباهت با والد مادری، امتیازدهی شدند. بر این اساس سه نوع باند مشاهده شدند: گیاه مادری (m)، دانهال‌هایی که باندهای مشابه با والد مادری داشتند (خورشی که حاصل تقسیم میتوز یاخته‌های بافت خورش می‌باشد؛ n)، و دانهال‌هایی که باندهای غیرمشابه با والد مادری داشتند (تخم‌زا - حاصل تلاقی گامت نر و ماده؛ z). هشت جفت آغازگر آزمایش شده، با موفقیت در جمعیت مورد بررسی تکثیر شدند. محصولات تکثیر ۸ جفت آغازگر قادر به امتیازدهی برای خاصیت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها بودند.

نتایج

بررسی چندشکلی ترکیبات آغازگری SSR برای صفت خورشی و تخم‌زا بودن در گونه‌های مختلف مرکبات

نتایج جفت آغازگرهای مورد استفاده برای شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا، چند شکلی‌های مناسبی در ارقام مورد مطالعه در این تحقیق در جدول ۳ ارائه گردیده است. با توجه به جدول ارائه شده، نتایج گویای یک الگوی واضحی هستند. این الگو نشان می‌دهد که میان دو گروه اصلی مرکبات - یعنی دانهال‌های رویانی خورشی و دانهال‌های رویانی تخم‌زای ارقام مختلف - تفاوت مشخصی در پاسخ به جفت آغازگرها وجود دارد. ارقام مادری پرتقال والنسیا، پرتقال خونی، پرتقال سیاورز، پرتقال هاملین، دارابی، پرتقال تامسون، نارنگی کلمانتین، لیمو ترش، نارنج، پرتقال واشنگتن و نارنگی یونسی، به نظر می‌رسد در برابر تمام جفت‌های آغازگر مورد بررسی (TAA33، TAA3، TAA41، CAC15، CAC23، TAA45، TAA27 و TAA1)، الگوی باندی پاسخ m را نشان داده‌اند. این نتیجه می‌تواند نشان‌دهنده یکپارچگی ژنتیکی در میان این گونه‌ها باشد. از طرف دیگر، دانهال‌های تخم‌زای رویانی کوتاه، رویانی بلند و تک رویان، الگوهای پاسخ متفاوتی را نشان داده‌اند. دانهال‌های رویانی کوتاه در تمامی ارقام مورد مطالعه بجز لیمو ترش، در برابر تمامی جفت‌های آغازگر مورد بررسی، پاسخ n را نشان داده‌اند، در حالی که دانهال‌های تک رویان و رویانی بلند در ارقام مختلف، الگوهای پاسخ متغیری را نشان داده‌اند. این نتیجه می‌تواند نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بیشتر در میان این گونه‌ها (ارقام) باشد.

جدول ۳- چندشکلی ارقام مختلف مرکبات برای شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا بر اساس نتایج آنالیز داده‌های مولکولی حاصل از جفت آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش.

Table 3. Polymorphisms of different citrus cultivars for identification of zygotic and nucellar seedlings based on results of molecular data analysis from primer pairs used in this research.

شماره No.	نام رقم Cultivar name	نام آغازگر Primer name							
		TAA33	TAA3	TAA41	CAC15	CAC23	TAA45	TAA27	TAA1
۱ 1	پرتقال والنسیا Valencia Orange	m	m	m	m	m	m	m	m
۲ 2	دانهال رویانی کوتاه Short embryonic seedling	n	n	n	n	n	n	n	n
۳ 3	دانهال رویانی بلند Tall embryonic seedling	n	n	n	n	n	n	n	n
۴ 4	پرتقال خونی Blood orange	m	m	m	m	m	m	m	m

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

۵	دانهال تک رویان	z	n	n	n	n	n	n	n
5	Mono-embryo seedling								
۶	پرتقال سیاورز	m	m	m	m	m	m	m	m
6	Siavaraz orange								
۷	دانهال رویانی کوتاه	n	n	n	n	n	n	n	n
7	Short embryonic seedling								
۸	دانهال رویانی بلند	z	n	n	n	n	n	n	n
8	Tall embryonic seedling								
۹	پرتقال هاملین	m	m	m	m	m	m	m	m
9	Hamlin orange								
۱۰	دانهال تک رویان	n	n	n	n	n	n	n	n
10	Mono-embryo seedling								
۱۱	دارابی	m	m	m	m	m	m	m	m
11	Pomelo								
۱۲	دانهال تک رویان	n	n	n	n	n	n	n	n
12	Mono-embryo seedling								
۱۳	پرتقال تامسون	m	m	m	m	m	m	m	m
13	Thomson orange								
۱۴	دانهال تک رویان	z	z	z	z	z	z	z	n
14	Mono-embryo seedling								
۱۵	نارنگی کلمانتین	m	m	m	m	m	m	m	m
15	Clementine tangerine								
۱۶	دانهال تک رویان	z	n	z	n	z	z	n	n
16	Mono-embryo seedling								
۱۷	لیموترش	m	m	m	m	m	m	m	m
17	Lime								
۱۸	دانهال رویانی بلند	n	z	z	n	z	z	n	z
18	Tall embryonic seedling								
۱۹	دانهال رویانی کوتاه	z	z	n	z	z	n	n	z
19	Short embryonic seedling								
۲۰	نارنج	m	m	m	m	m	m	m	m
20	Sour orange								
۲۱	دانهال رویانی کوتاه	n	n	n	n	n	n	n	n
21	Short embryonic seedling								
۲۲	دانهال رویانی بلند	z	n	n	n	n	n	n	n
22	Tall embryonic seedling								
۲۳	پرتقال واشنگتن	m	m	m	m	m	m	m	m
23	Washington orange								

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

۲۴	دانهال رویانی بلند	z	n	n	n	n	n	n	n
24	Tall embryonic seedling								
۲۵	دانهال رویانی کوتاه	n	n	n	n	n	n	n	n
25	Short embryonic seedling								
۲۶	نارنگی یونسی	m	m	m	m	m	m	m	m
26	Puncan tangerine								
۲۷	دانهال رویانی کوتاه	n	n	n	n	n	n	n	n
27	Short embryonic seedling								
۲۸	دانهال رویانی بلند	n	n	n	n	n	n	n	n
28	Tall embryonic seedling								

z : تخم زا n : خورشی m : مادری

نتایج ترکیب‌های آغازگری مورد استفاده به طور کلی ۴۵ آلل را تکثیر کردند که تعداد ۳۵ آلل با صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها چندشکلی نشان دادند. همچنین، دامنه تعداد آلل بین ۳-۱۱ با میانگین ۵/۷۵ بود (جدول ۴).

جدول ۴- اندازه آلل‌ها (bp) و تعداد آلل جفت آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش.

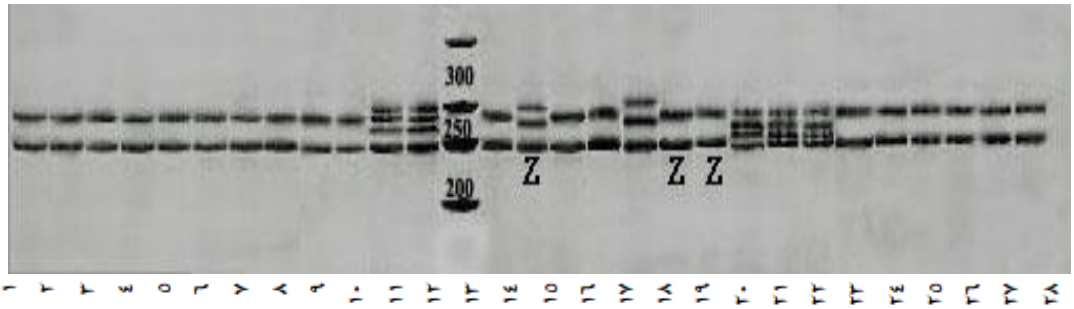
Table 4. Size of alleles (bp) and number of allele of primer pairs used in this research.

نام نشانگر Marker name	اندازه آلل (جفت باز) Allele size (base pair)	تعداد آلل Allele number
TAA1	۱۷۰ -۱۸۷	۳
	170-187	3
CAC15	۱۶۰ -۲۲۰	۴
	160-220	4
TAA3	۲۶۵-۳۹۸	۶
	265-398	6
TAA27	۱۷۰ -۲۱۰	۳
	170-210	3
TAA41	۲۴۰ -۳۸۵	۱۱
	240-385	11
TAA33	۲۰۵ -۲۵۰	۴
	205-250	4
TAA45	۱۴۳ -۳۳۰	۸
	143-330	8
CAC23	۲۴۸ -۳۰۵	۸
	248-305	8

ترکیب آغازگری CAC23

همان‌طورکه در شکل ۱ مشخص شده، این جفت آغازگر ۸ آلل در جمعیت مورد مطالعه داشت. همچنین اندازه آلل‌ها بین ۲۴۸ تا ۳۰۵ جفت باز بود. علاوه‌براین، ترکیب آغازگری CAC23، ۲ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌های ۳۰۰ و ۳۰۵ جفت باز را در ۲ رقم پرتقال تامسون و لیموترش تکثیر کرد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



شکل۱- الگوهای باندی ترکیب آغازگری CAC23 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل‌پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

Fig. 1. Banding patterns of primer combination CAC23 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1. Valencia orange, 2. Short embryonic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryonic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryo seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryonic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryonic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryo seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryo seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryo seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryo seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryonic seedling of Lime, 19. Short embryonic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryonic seedling of Sour orange, 22. Tall embryonic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryonic seedling of Washington orange, 25. Short embryonic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryonic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryonic seedling of Puncan tangerine.

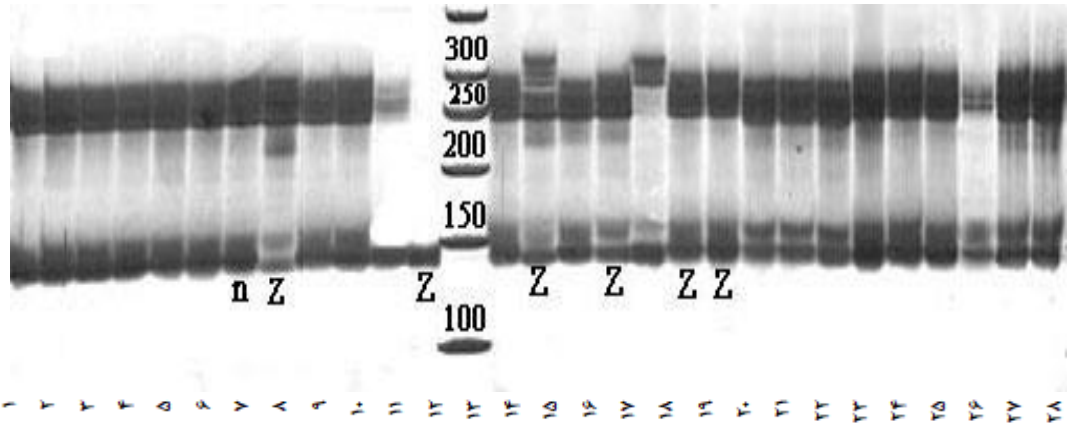
ترکیب آغازگری TAA45

همان‌طورکه در شکل ۲ مشخص شده، این جفت آغازگر ۸ آلل در جمعیت مورد مطالعه داشت. اندازه آلل‌ها بین ۱۴۳ تا ۳۳۰ جفت باز بود. ترکیب آغازگری TAA45، ۸ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌های ۱۴۳، ۱۵۸، ۲۳۰، ۲۴۵، ۲۷۰، ۲۸۵، ۳۰۰ و ۳۳۰ جفت‌باز، در ۵ نمونه گیاهی مختلف مرکبات سیاورز، پرتقال تامسون، نارنگی کلمانتین، دارابی و لیموترش تکثیر کرد.

ترکیب آغازگری TAA33

همان‌طورکه در شکل ۳ مشخص شده، این جفت آغازگر ۴ آلل در جمعیت مورد مطالعه داشت. اندازه آلل‌ها بین ۲۰۵ تا ۲۵۰ جفت باز بود. ترکیب آغازگری TAA33، ۲ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌های ۲۳۵ و ۲۵۰ جفت باز، در ۷ رقم پرتقال سیاورز، پرتقال خونی، پرتقال تامسون، نارنگی کلمانتین، نارنج، پرتقال واشنگتن و لیموترش تکثیر کرد.

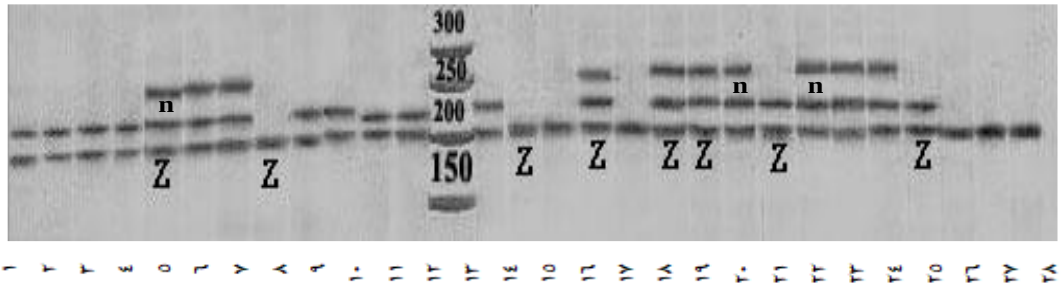
[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



شکل۲- الگوهای باندی ترکیب آغازگری TAA45 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

Fig. 2. Banding patterns of primer combination TAA45 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1. Valencia orange, 2. Short embryonic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryonic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryo seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryonic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryonic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryo seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryo seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryo seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryo seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryonic seedling of Lime, 19. Short embryonic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryonic seedling of Sour orange, 22. Tall embryonic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryonic seedling of Washington orange, 25. Short embryonic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryonic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryonic seedling of Puncan tangerine.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



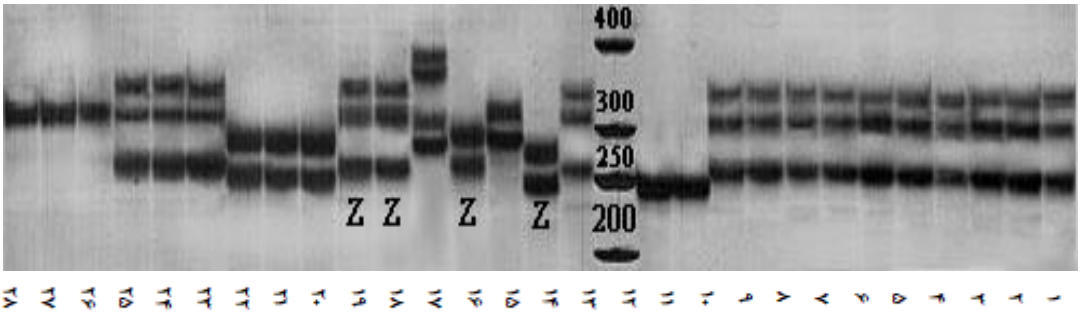
شکل۳- الگوهای باندی ترکیب آغازگری TAA33 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

Fig. 3. Banding patterns of primer combination TAA33 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1 . Valencia orange, 2. Short embryonic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryonic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryo seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryonic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryonic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryo seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryo seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryo seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryo seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryonic seedling of Lime, 19. Short embryonic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryonic seedling of Sour orange, 22. Tall embryonic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryonic seedling of Washington orange, 25. Short embryonic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryonic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryonic seedling of Puncan tangerine.

ترکیب آغازگری TAA41

همان‌طورکه در شکل ۴ مشخص شده، این جفت آغازگر ۱۱ آلل در جمعیت داشت. اندازه آلل‌ها بین ۲۴۰ تا ۳۸۵ جفت‌باز بود. ترکیب آغازگری TAA41 ۱۰ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌های ۲۴۰، ۲۵۷، ۲۷۴، ۲۸۰، ۲۹۰، ۲۹۵، ۳۰۵، ۳۱۵، ۳۵۰، ۳۷۵ و ۳۸۵ جفت‌باز، در ۳ رقم پرتقال تامسون، نارنگی کلمانتین و لیموترش تکثیر کرد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



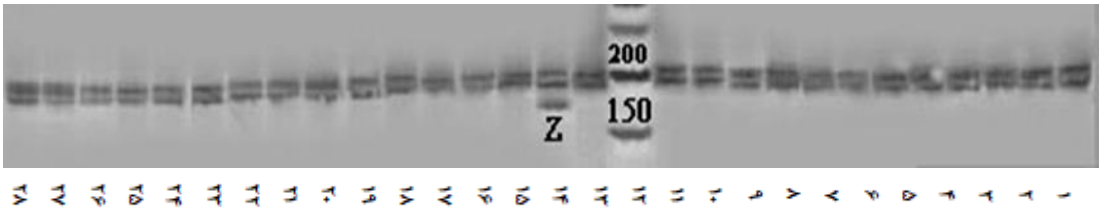
شکل ۴- الگوهای باندی ترکیب آغازگری TAA41 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

Fig. 4. Banding patterns of primer combination TAA41 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1 . Valencia orange, 2. Short embryonic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryonic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryo seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryonic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryonic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryo seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryo seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryo seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryo seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryonic seedling of Lime, 19. Short embryonic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryonic seedling of Sour orange, 22. Tall embryonic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryonic seedling of Washington orange, 25. Short embryonic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryonic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryonic seedling of Puncan tangerine.

ترکیب آغازگری TAA27

همان‌طورکه در شکل ۵ مشخص شده، این جفت آغازگر ۳ آلل در جمعیت داشت. اندازه آلل‌ها بین ۱۷۰ تا ۲۱۰ جفت‌باز بود. ترکیب آغازگری TAA27، ۱ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌ی ۱۷۰ جفت‌باز در پرتقال تامسون تکثیر کرد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



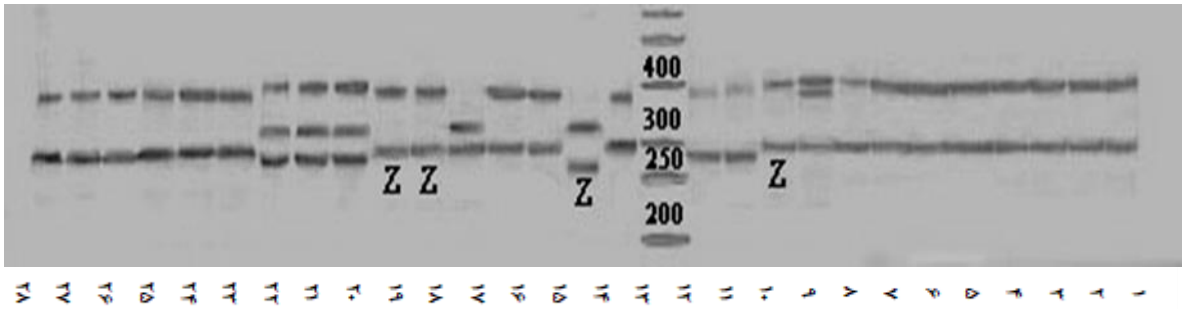
شکل ۵- الگوهای باندی ترکیب آغازگری TAA27 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

Fig. 5. Banding patterns of primer combination TAA27 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1 . Valencia orange, 2. Short embryonic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryonic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryo seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryonic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryonic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryo seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryo seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryo seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryo seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryonic seedling of Lime, 19. Short embryonic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryonic seedling of Sour orange, 22. Tall embryonic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryonic seedling of Washington orange, 25. Short embryonic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryonic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryonic seedling of Puncan tangerine.

ترکیب آغازگری TAA3

همان‌طورکه در شکل ۶ مشخص شده، این جفت آغازگر ۶ آلل در جمعیت داشت. اندازه آلل‌ها بین ۲۶۵ تا ۳۹۸ جفت‌باز بود. ترکیب آغازگری TAA3، ۵ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌های ۲۶۵، ۲۸۵، ۲۹۸، ۳۲۰، ۳۹۰، ۳۹۸ جفت‌باز، در ۳ رقم پرتقال هاملین، پرتقال تامسون و لیموترش تکثیر کرد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



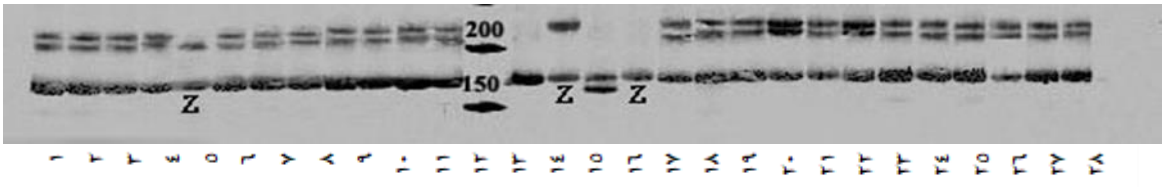
شکل۶- الگوهای باندی ترکیب آغازگری TAA3 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

Fig. 6. Banding patterns of primer combination TAA3 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1 .Valencia orange, 2. Short embryonic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryonic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryo seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryonic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryonic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryo seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryo seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryo seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryo seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryonic seedling of Lime, 19. Short embryonic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryonic seedling of Sour orange, 22. Tall embryonic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryonic seedling of Washington orange, 25. Short embryonic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryonic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryonic seedling of Puncan tangerine.

ترکیب آغازگری CAC15

همان‌طورکه در شکل ۷ نشان داده شده، این جفت آغازگر ۴ آلل را در جمعیت مورد مطالعه داشت. همچنین اندازه آلل‌ها بین ۱۶۰ تا ۲۲۰ جفت‌باز بود. علاوه‌براین، ترکیب آغازگر CAC15، ۴ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌های ۱۶۰، ۱۷۰، ۲۱۰ و ۲۲۰ جفت‌باز، در ۳ گونه مختلف مرکبات از جمله پرتقال خونی، پرتقال تامسون و لیموترش را تکثیر کرد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



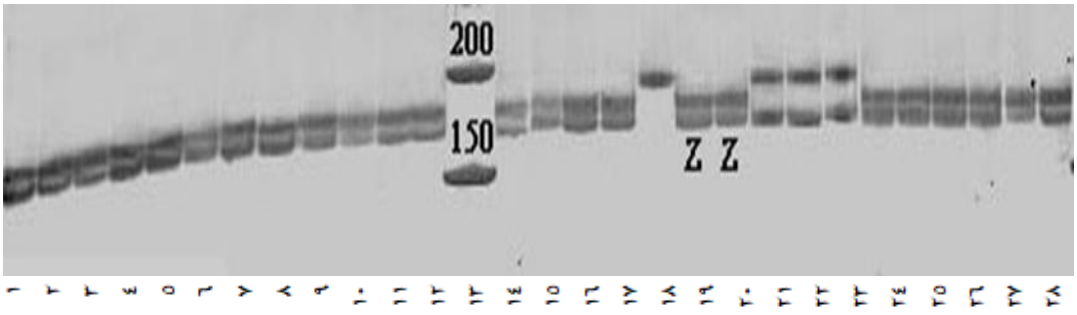
شکل ۷- الگوهای باندی ترکیب آغازگری CAC15 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

Fig. 7. Banding patterns of primer combination CAC15 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1. Valencia orange, 2. Short embryogenic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryogenic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryogenic seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryogenic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryogenic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryogenic seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryogenic seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryogenic seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryogenic seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryogenic seedling of Lime, 19. Short embryogenic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryogenic seedling of Sour orange, 22. Tall embryogenic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryogenic seedling of Washington orange, 25. Short embryogenic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryogenic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryogenic seedling of Puncan tangerine.

ترکیب آغازگری TAA1

همان‌طورکه در شکل ۸ نشان داده شده این جفت آغازگر، ۳ آلل را در جمعیت از خود نشان داد. همچنین دامنه آلل‌ها بین ۱۷۰ تا ۱۸۷ جفت‌باز بود. افزون‌براین، ترکیب آغازگری TAA1، ۳ آلل چند شکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها با اندازه‌های ۱۷۰، ۱۸۰ و ۱۸۷ جفت‌باز را در لیموترش تکثیر کرد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



شکل ۸- تصویر الگوهای باندی ترکیب آغازگری TAA1 در نمونه‌های مورد بررسی روی ژل پلی‌اکریلامید ۶ درصد. ۱- پرتقال والنسیا، ۲- دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا، ۳- دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا، ۴- پرتقال خونی، ۵- دانهال تک رویان پرتقال خونی، ۶- پرتقال سیاورز، ۷- دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز، ۸- دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز، ۹- پرتقال هاملین، ۱۰- دانهال تک رویان پرتقال هاملین، ۱۱- دارابی، ۱۲- دانهال تک رویان دارابی، ۱۳- پرتقال تامسون، ۱۴- دانهال تک رویان پرتقال تامسون، ۱۵- نارنگی کلمانتین، ۱۶- دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین، ۱۷- لیمو ترش، ۱۸- دانهال رویانی بلند لیمو ترش، ۱۹- دانهال رویانی کوتاه لیمو ترش، ۲۰- نارنج، ۲۱- دانهال رویانی کوتاه نارنج، ۲۲- دانهال رویانی بلند نارنج، ۲۳- پرتقال واشنگتن، ۲۴- دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن، ۲۵- دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن ۲۶- نارنگی یونسی ۲۷- دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی، ۲۸- دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی.

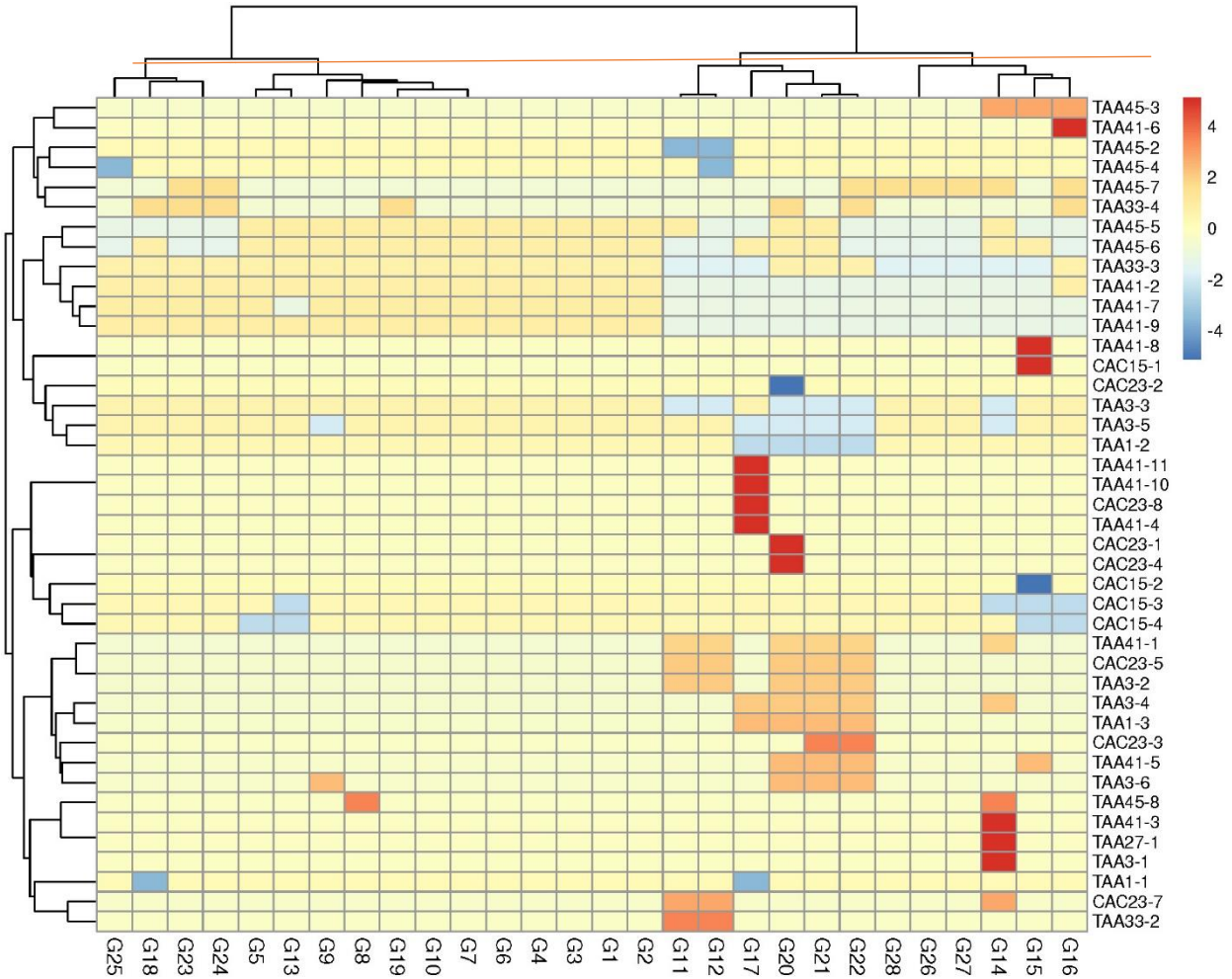
Fig. 8. Banding patterns of primer combination TAA1 in studied samples on 6% polyacrylamide gel. 1 .Valencia orange, 2. Short embryonic seedling of Valencia orange, 3. Tall embryonic seedling of Valencia orange, 4. Blood orange, 5. Mono-embryo seedling of Blood orange, 6. Siavaraz orange, 7. Short embryonic seedling of Siavaraz orange, 8. Tall embryonic seedling of Siavaraz orange, 9. Hamlin orange, 10. Mono-embryo seedling of Hamlin orange, 11. Pomelo, 12. Mono-embryo seedling of Pomelo, 13. Thomson orange, 14. Mono-embryo seedling of Thomson orange, 15. Clementine tangerine, 16. Mono-embryo seedling of Clementine tangerine, 17. Lime, 18. Tall embryonic seedling of Lime, 19. Short embryonic seedling of Lime, 20. Sour orange, 21. Short embryonic seedling of Sour orange, 22. Tall embryonic seedling of Sour orange, 23. Washington orange, 24. Tall embryonic seedling of Washington orange, 25. Short embryonic seedling of Washington orange, 26. Puncan tangerine, 27. Short embryonic seedling of Puncan tangerine, 28. Tall embryonic seedling of Puncan tangerine.

بیشترین تعداد آلل مربوط به ترکیب آغازگری TAA41 با ۱۱ آلل چند شکل و کم‌ترین تعداد آلل (۳ آلل) مربوط به جفت آغازگرهای TAA27 و TAA1 بود. اندازه بزرگ ترین قطعه مربوط به جفت آغازگر TAA3 با طول آلل ۳۹۸ جفت باز و کوچک ترین قطعه مربوط به جایگاه TAA45 با طول آلل ۱۴۳ جفت‌باز بود و مابقی جفت آغازگرها، قطعاتی را تکثیر نمودند که اندازه آنها در دامنه بین جفت آغازگرهای TAA45 و TAA3 قرار داشت.

تجزیه خوشه‌ای

نتایج تجزیه خوشه‌ای (شکل ۹) نشان داد که تعداد چهار خوشه برای گونه‌های مختلف مرکبات نمایان شده است. به‌طوریکه در خوشه اول نژادگان‌های نارنگی کلمانتین (۱۵)، دانهال تک رویان نارنگی کلمانتین (۱۶)، دانهال تک رویان پرتقال تامسون (۱۴)، نارنگی یونسی (۲۶)، دانهال رویانی کوتاه نارنگی یونسی(۲۷) و دانهال رویانی بلند نارنگی یونسی (۲۸) قرار گرفتند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



شکل ۹- تجزیه خوشه‌ای نژادگان‌های مورد مطالعه.

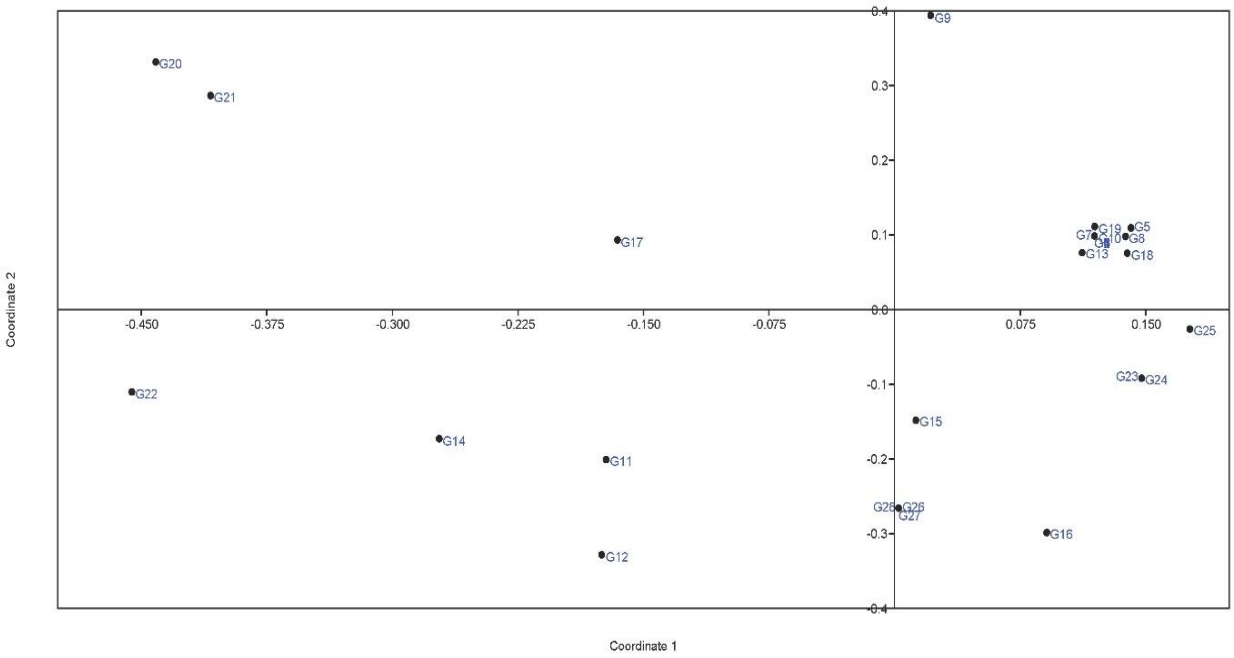
Fig. 9. Cluster analysis of studied genotypes.

در خوشه دوم، نژادگان‌های نارنج (۲۰)، دانهال رویانی کوتاه نارنج (۲۱)، دانهال رویانی بلند نارنج (۲۲)، دارابی (۱۱)، دانهال تک رویان دارابی (۱۲) و لیموترش (۱۷) قرار گرفتند. همچنین، در خوشه سوم بیشترین افراد را در خود جای داد. در این خوشه، نژادگان‌های پرتقال والنسیا (۱)، دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا (۲)، دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا (۳)، پرتقال خونی (۴)، پرتقال سیاورز (۶)، دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز (۷)، دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز (۸)، پرتقال هاملین (۹)، دانهال تک رویان پرتقال هاملین (۱۰)، پرتقال تامسون (۱۳) و دانهال تک رویان پرتقال خونی (۵) قرار گرفتند. همچنین، در آخرین خوشه نیز نژادگان‌های دانهال رویانی بلند لیمو ترش(۱۸)، پرتقال واشنگتن (۲۳)، دانهال رویانی بلند پرتقال واشنگتن (۲۴) و دانهال رویانی کوتاه پرتقال واشنگتن (۲۵) قرار گرفتند.

تجزیه به بردارهای اصلی

جهت انجام دقیق‌تر گروه‌بندی افراد از تجزیه به بردارهای اصلی استفاده گردید. در این مطالعه، در مجموع ۸ بردار بیش از ۸۵ درصد از تنوع بین افراد را توجیه نمودند که این امر توزیع مناسب نشانگرها را بین ژنوم افراد نشان می‌داد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



شکل ۱۰- تجزیه به بردارهای اصلی در نژادگان های مورد مطالعه.

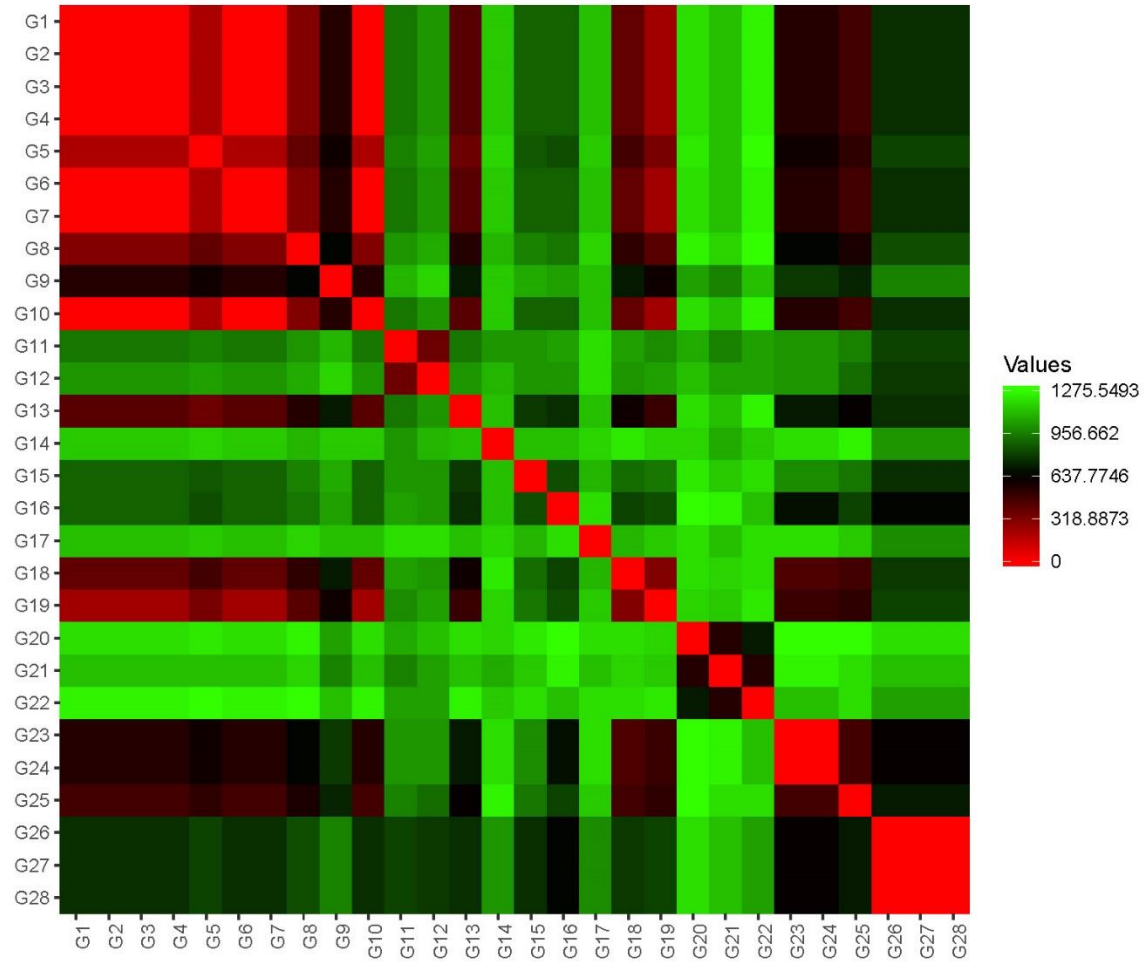
Fig. 10. Decomposition into principal vectors in studied genotypes.

بر اساس نتایج تجزیه به بردارهای اصلی، تعداد ۳ گروه تشکیل گردید. به‌طوریکه در گروه اول، نژادگان‌های نارنج (۲۰)، دانهال رویانی کوتاه نارنج (۲۱) و دانهال رویانی بلند نارنج (۲۲) در کنار یکدیگر قرار گرفتند. نکته جالب توجه اینکه این سه نژادگان در تجزیه خوشه‌ای نیز کنار یکدیگر قرار گرفته بودند (شکل ۱۰). در گروه دوم، نژادگان‌های دارابی (۱۱)، دانهال تک رویان دارابی (۱۲)، دانهال تک رویان پرتقال تامسون (۱۴) و لیموترش (۱۷) در کنار یکدیگر قرار گرفته بودند. در آخرین گروه، نیز، مشابه تجزیه خوشه‌ای، اکثر نژادگان‌ها کنار هم قرار گرفته بودند. نکته جالب توجه این مطالعه تأیید نتایج تجزیه خوشه ای توسط تجزیه به بردارهای اصلی بود که توزیع مناسب نشانگرها در ژنوم گیاهان مورد مطالعه را به خوبی نشان می‌دهد.

مطالعه فاصله ژنتیکی بین افراد

به منظور تأیید گروه‌بندی افراد (نژادگان ها) توسط دو روش تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به بردارهای اصلی، فاصله ژنتیکی بین افراد محاسبه شد و در قالب یک هیت مپ در شکل ۱۱ ارائه گردید.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]



شکل ۱۱- هیت مپ نشان‌دهنده فواصل ژنتیکی بین نژادگان های مورد مطالعه.

Fig. 11. Heat map showing genetic distances between studied genotypes.

بر این اساس، نژادگان‌های پرتقال والنسیا (۱)، دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا (۲)، دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا (۳)، پرتقال خونی (۴)، دانهال تک رویان پرتقال خونی (۵)، پرتقال سیاورز (۶)، دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز (۷) و دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز (۸) دارای کمترین فاصله ژنتیکی بودند و بیشترین شباهت را با یکدیگر داشتند. نکته جالب توجه اینکه این نژادگان‌ها در سایر تجزیه‌ها نیز در کنار یکدیگر قرار گرفتند که کلیه این عوامل شباهت ژنتیکی بالای این افراد را به خوبی نشان می‌دهد. همچنین نژادگان‌های دارابی (۱۱)، دانهال تک رویان دارابی (۱۲)، دانهال تک رویان پرتقال تامسون (۱۴)، لیموترش (۱۷)، نارنج (۲۰)، دانهال رویانی کوتاه نارنج (۲۱) و دانهال رویانی بلند نارنج (۲۲) دارای بیشترین فاصله با نژادگان‌های پرتقال والنسیا (۱)، دانهال رویانی کوتاه پرتقال والنسیا (۲)، دانهال رویانی بلند پرتقال والنسیا (۳)، پرتقال خونی (۴)، دانهال تک رویان پرتقال خونی (۵)، پرتقال سیاورز (۶)، دانهال رویانی کوتاه پرتقال سیاورز (۷) و دانهال رویانی بلند پرتقال سیاورز (۸) بودند. نکته دیگری که جالب بنظر می رسید نژادگان‌های مزبور در سایر روش‌های گروه‌بندی در یک گروه جداگانه در کنار یکدیگر قرار گرفته بودند و بیشترین فاصله را با سایرین داشتند.

در آنالیز مولکولی ارقام مورد مطالعه، ۸ ترکیب آغازگری استفاده شده، آلل‌های چندشکل مرتبط با صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها را ایجاد نمودند. آغازگرهای TAA41 و TAA45 چندشکلی بالایی را برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها ایجاد کردند، به طوری‌که هر کدام به ترتیب در ۷ و ۵ رقم از مرکبات مورد مطالعه، این چندشکلی را نشان دادند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

از ۱۱ رقم مورد مطالعه در این پژوهش، ۹ رقم پرتقال خونی، پرتقال سیاورز، دارابی، پرتقال هاملین، نارنگی کلمانتین، نارنج، پرتقال واشنگتن، لیموترش و پرتقال تامسون توانستند با نشانگرهای ریزماهواره‌ای استفاده شده، صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها را نشان دهند.

هشت و هفت ترکیب آغازگری، آلل‌های چندشکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها به ترتیب در ارقام تامسون ناول و لیموترش را تکثیر کردند. در ارقام والنسیا و نارنگی یونسی، هیچ کدام از جفت آغازگرها نتوانستند آلل‌های چندشکل برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها تولید کنند. جفت آغازگرهای TAA1، TAA41، TAA33، TAA27، TAA3، CAC15، TAA45 و CAC23 نشانگرهای چند شکل پیوسته با صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها ایجاد کردند که در بسیاری از ارقام مشاهده گردید.

بحث

مطالعه حاضر، با استفاده از تکنیک SSR، به بررسی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا در برخی از گونه‌های مرکبات پرداخته است. این تکنیک، که بر مبنای تکرارهای SSR یا میکروساتلیت‌ها است، امکان تشخیص دقیق و تفکیک گونه‌های مختلف مرکبات را فراهم می‌کند. نتایج حاصل از این تحقیق، ارزشمندی خاص در زمینه انتخاب گونه‌های مرکبات برای برنامه‌های نژادی و حفاظتی دارد. نتایج ارائه شده در جدول ۳، نشان از یک تفکیک واضح بین دو گروه اصلی مرکبات - دانهال‌های رویانی خورشی و دانهال‌های رویانی تخم‌زای ارقام مختلف- می‌دهد. ارقام مادری، با ایجاد الگوی باندی m در برابر تمامی جفت‌های آغازگر مورد بررسی، نشان از یکپارچگی ژنتیکی می‌دهند. این یکپارچگی ممکن است نشان‌دهنده این باشد که این گونه‌ها در برابر فشارهای محیطی مشابهی تکامل یافته‌اند، یا اینکه آنها از یک سری ژنوم مشترک و یا نزدیک تکامل یافته‌اند. همچنین، این ممکن است نشان‌دهنده این باشد که این گونه‌ها در طول تاریخ تکاملی خود، به سمت حفظ تعداد کمتری از تنوع ژنتیکی پیشرو شده‌اند. در مقابل، دانهال‌های تخم‌زا الگوهای پاسخ متفاوتی به جفت‌های آغازگر نشان داده‌اند. دانهال‌های رویانی کوتاه ارقام مختلف بجز لیمو ترش، الگوی باندی n را در برابر تمامی جفت‌های آغازگر نشان داده‌اند، در حالی که دانهال‌های تک رویان و رویانی بلند در ارقام مختلف، الگوهای باندی متغیری را نشان داده‌اند. این تنوع می‌تواند نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بیشتر در میان این گونه‌ها باشد، که ممکن است نشان‌دهنده تکامل در برابر فشارهای محیطی متفاوت، یا حفظ یک تنوع ژنتیکی بیشتر در طول تاریخ تکاملی آنها باشد. این تفاوت‌ها می‌توانند دلایل مختلفی داشته باشند، از جمله تفاوت‌های در ساختار ژنتیکی، فشارهای محیطی، یا تاریخچه تکاملی متفاوت این گروه‌ها. همچنین می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که این گونه‌ها در پاسخ به فشارهای انتخاب طبیعی متفاوتی تکامل یافته‌اند (Scora, 1988).

با توجه به جدول ۴ و اطلاعاتی که ارائه شد، می‌توان برخی تفسیرها و نتایج قابل توجه را مطرح نمود. تعداد کل آلل‌های تولید شده توسط هر جفت آغازگر (یا نشانگر) نشان می‌دهد که تکنیک SSR می‌تواند تنوع ژنتیکی قابل توجهی را در میان ارقام مرکبات شناسایی کند. این تنوع، می‌تواند در تشخیص و تمایز بین ارقام مختلف مرکبات کمک کند، و همچنین می‌تواند به ما این امکان را بدهد که ژنتیک این گونه‌ها را بهتر درک کنیم. براساس اطلاعات، ۳۵ از ۴۵ آلل چندشکلی با صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانه‌ها نشان داده‌اند. این به ما نشان می‌دهد که می‌توانیم از تکنیک SSR برای شناسایی و تمایز بین دانهال‌های رویانی خورشی و تخم‌زا استفاده کنیم. این نتایج می‌توانند در برنامه‌های نژادی و حفاظتی مرکبات کاربرد داشته باشند. مشاهده می‌شود که اندازه آلل‌های تولید شده توسط هر جفت آغازگر متفاوت است. این تفاوت در اندازه آلل‌ها می‌تواند نشان‌دهنده تفاوت‌های ژنتیکی درون گونه‌ای و بین گونه‌ای باشد. همچنین از جدول می‌توان دید که تعداد آلل‌های تکثیر شده برای هر نشانگر متغیر است، با دامنه‌ای بین ۳ تا ۱۱ آلل و میانگین حدود ۵/۷۵ آلل. این نشان می‌دهد که بعضی از نشانگرها بیشتر از دیگران می‌توانند تنوع ژنتیکی را نشان دهند. برای مثال، TAA41 با ۱۱ آلل، بیشترین تنوع را نشان می‌دهد، در حالی که TAA1، CAC15 و TAA27 با ۳ آلل، کمترین تنوع را نشان می‌دهند.

با توجه به نتایج تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به بردارهای اصلی، می‌توان از چند جنبه مختلف بر این نتایج بحث کرد: به نظر می‌رسد که نژادگان‌های مختلف مرکبات بر اساس صفات خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها، به چهار خوشه اصلی تقسیم شده‌اند. این خوشه‌بندی نشان از وجود تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام مختلف مرکبات دارد. این تنوع می‌تواند بر اساس

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

تفاوت‌های ژنتیکی در میان گونه‌های مختلف یا تفاوت‌های ژنومی درون یک گونه تفسیر شود. تجزیه به بردارهای اصلی نیز نتایج مشابهی را نشان داده و سه گروه اصلی را شناسایی کرده است. این تأیید می‌کند که خوشه‌بندی اولیه براساس تفاوت‌های ژنتیکی بین نژادگان‌ها بوده است. فاصله ژنتیکی بین نژادگان‌ها که در هیت مپ شکل ۱۱ نشان داده شده، نیز تأییدکننده خوشه‌بندی و گروه‌بندی اصلی است. این نشان‌دهنده تطابق بین تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به بردارهای اصلی و فاصله ژنتیکی است. نشانگرهای TAA41 و TAA45، چندشکلی بالایی را برای صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها ایجاد کردند. این نشان‌دهنده قدرت این نشانگرها در شناسایی تنوع ژنتیکی مرتبط با این صفت‌ها است. تفاوت‌های نژادگانی بین گونه‌های مختلف مرکبات با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای استفاده شده، صفت خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها را نشان داده است (Golein *et al.*, 2011). این نشان می‌دهد که تکنیک‌های مولکولی می‌توانند در شناسایی و توصیف تفاوت‌های ژنومی بین گونه‌ها و ارقام مختلف مرکبات موثر باشند. با استفاده از تکنیک‌های مولکولی، مانند نشانگرهای ریزماهواره، می‌توان تنوع ژنتیکی موجود در بین گونه‌ها و ارقام مختلف مرکبات را بررسی کرد (Golein *et al.*, 2005 و Golein *et al.*, 2013). این تنوع می‌تواند به ما درک بهتری از ساختار ژنتیکی و تفاوت‌های بین ارقام مختلف بدهد، و همچنین می‌تواند در برنامه‌های انتخاب نژادی مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به نتایج خوشه‌بندی و تجزیه به بردارهای اصلی، می‌توان فهمید که نژادگان‌های مختلف مرکبات بر اساس صفات خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها، به خوشه‌ها و گروه‌های متفاوتی تقسیم شده‌اند. این تقسیم‌بندی نشان از وجود تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام مختلف مرکبات است (Golein *et al.*, 2011). به طور کلی، استفاده از این تکنیک‌ها می‌تواند به ما درک بهتری از تنوع ژنتیکی و تفاوت‌های ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام مختلف مرکبات بدهد و برای برنامه‌های انتخاب نژادی و تحقیقات زیستی، ارزشمند باشد (Golein *et al.*, 2005).

نشانگرهای SSR با توجه به ویژگی همبارز بودن‌شان، قادر به شناسایی مکان‌های ژنی هتروزیگوس با ماهیت چندآللی (Silva Junior *et al.*, 2020) و تشخیص همزمان چند آلل (Zucchi *et al.*, 2003) می‌باشند. همچنین، چندشکلی بالا، تکرارپذیری (Silva Junior *et al.*, 2020) و توزیع یکنواخت در سراسر ژنوم (Souza, 2015) از ویژگی‌های منحصربفرد این نشانگرهاست. Golein و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از آغازگرهای ISSR توانستند ۲۷ دانهال هیبرید و ۱۶۰ دانهال خورشی را از ۲۲۷ دانهال حاصل از تلاقی رقم یاشار با ۵ رقم دیگر مرکبات شناسایی کنند. ولی این نشانگرها غالب بودند و با استفاده از آنها نمی‌توان آلل‌های همبارز را شناسایی نمود. بعلاوه، برخی توالی‌های ISSR در تمامی نژادگان‌های مرکبات وجود ندارند. در حالیکه توالی‌های SSR با توجه به ماهیت شان (توالی ۱ تا ۶ نوکلئوتیدی پشت سرهم) چندشکلی بیشتری از توالی‌های ISSR دارند. بعلاوه، آغازگرهای ISSR توالی‌های تصادفی ژنوم را هم تکثیر می‌کنند و لذا نظیر آغازگرهای SSR اختصاصی عمل نمی‌کنند (Kianoush و همکاران، ۲۰۰۹). در تحقیقات Golein و همکاران (۲۰۱۱)، نتاج تلاقی یک رقم با چند رقم دیگر با استفاده از آغازگرهای ISSR برای شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا ارزیابی شدند. در تحقیقات ما، ارقام مختلف مرکبات و دانهال‌های حاصل از کاشت بذور آنها با استفاده از جفت آغازگرهای SSR برای شناسایی دانهال‌های خورشی و تخم‌زا مورد بررسی قرار گرفتند و در واقع طیف وسیعتری از ارقام مرکبات از جهت این صفت بررسی شدند.

نتیجه‌گیری

می‌توان دریافت نشانگرهای SSR خورشی تخم‌زا بویژه TAA45 و TAA33 با توجه به چندشکلی خوبی که برای شناسایی دانهال‌ها مختلف مرکبات از خود نشان دادند، می توانند در برنامه‌های اصلاحی گونه ها و ارقام مختلف مرکبات کاربرد وسیعی را برای شناسایی دانهال‌های خورشی از تخم‌زا داشته باشند. هر چند، جهت دستیابی به نقشه ژنتیکی ژن‌های مسؤل خورشی یا تخم‌زا بودن دانهال‌ها در مرکبات، می‌بایست از آغازگرهای اختصاصی بیشتر و تکنیک تلاقی جهت ایجاد جمعیت در حال تفرق و کافی بهره برد.

منابع

References

Cheng, Y.J., Guo, W.W., Deng, X.X. (2003). Molecular characterization of cytoplasmic and nucellar genomes in phenotypically abnormal Valencia Orang (*Citrus sinensis*) + Meiwa Kumquat (*Fortunella crassifolia*) intergeneric somatic hybrids. *Plant Cell Report, 21*, 445- 451.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

Frost, H.B. (1943). Genetics and breeding. In: Webber HJ, Batchelor LD (eds.), The Citrus Industry. University of California, USA, *1*, 817-913.

Gmitter, F.G., Grosser, J.W., Moore, A.G. (1992). Citrus. In: Hammerschlag, F. and R. Litz (eds.), Biotechnology of Perennial Fruit Crops. pp. 335–69. CAB Int. Wallingford, UK.

Golein, B, Talaie, A., Zamani Z., Ebadi, A, Behjatnia, A. (2005). Assessment of Genetic Variability in Some Iranian Sweet Oranges (*Citrus sinensis [L] Osbbeck*) and Mandarins (*Citrus reticulate* Blanco) using SSR Markers. *International Journal of Agriculture and Biology, 7(2),* 167-170.

Golein, B., Fifaei, R., Ghasemi, M. (2011). Identification of zygotic and nucellar seedlings in citrus interspecific crosses by inter simple sequence repeats (ISSR) markers. *African Journal of Biotechnology, 10(82),* 8965-18970. DOI: 10.5897/AJB11.2810

Golein, B., Ghasemi. M., Fattahi Moghadam, J., Gholamian E. (2013). Genetic analysis between unknown Citrus accessions and commercially important cultivars using ISSR marker. *Agricultural Biotechnology Journal 5(4),* 111-124. DOI: 10.22103/jab.2014.1225. (In Persian).

Guimaraes, C.T., Magalhaes, J.V., Lanza, M.A., Schuster, I. (2009). Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. *Informe Agropecuário, 30(253),* 24-33.

Kianoush, S., Babaeian Jelodar, N., Asadi Abkenar, N. (2009). Evaluation of genetic diversity in *citrus* germless using microsatellite (SSR) markers. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 15(6),* 109-117. (In Persian).

Martínez-Ochoa, E.C., Villegas-Velázquez, I., Alarcón-Zúñiga, B., González-Hernández, V.A., Villegas-Monter, A. (2022). Polyembryony in citrus: does the largest embryo in the seed develop a nucellar seedling? *Scientia Agricola, 79(6),* 1-7. DOI: http://doi.org/10.1590/1678-992X-2020-006

Navarro-García, N., García-Almodóvar, R.C., Córdoba, F., López-Pérez, A.J., Jiménez-Alfaro, Y., Pérez-Tornero, O. (2019). Identification of zygotic and nucellar seedlings in *Citrus limon*: the search for molecular markers. *Acta Horticulture, 1230,* 35-42. DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1230.5

Novelli, V.M., Cristofani, M., Machado, M.A. (2000). Evaluation of microsatellite markers in cultivars of sweet orange (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck). *Acta Horticulture, 535,* 47–9.

Pang, X., Hu, C., Deng, X. (2003). Phylogenetic relationships among citrus and its relatives as revealed by SSR markers. *Acta Genetica Sinica, 30,* 81–7.

Ruiz, C., Breto, M.P., Asins, M.J. (2000). A quick methodology to identify sexual seedlings in citrus breeding programs using SSR markers. *Euphytica, 112,* 89-94. doi:10.1023/A:1003992719598

Scarano, M.T., Tusa, N., Abbate, L., Lucretti, S., Nardi, L., Ferrante, S. (2003). Flow cytometry, SSR and modified AFLP for the identification of Zygotic plantlets in back crosses between Femminello lemon cybrids (2n and 4n) and a diploid clone of Femminello lemon (*Citrus limon* L. Burn, F.) tolerant to malsecoo disease. *Plant Science, 164,* 1009-1017.

Silva Junior, M.S.F.S., Sousa Borges, A.A., Santos, S.R.N., Moura, V.G., Silvana, G.R., Soares Dias, A.C., Araujo, A.M., Oliveira Filho, J.W.G. (2020). SSR and ISSR markers in assessing genetic diversity in Gallus gallus domesticus: a quantitative analysis of scientific production. *Ciência Rural, 50(7),* 1-9. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190401

Scora, R.W. (1988). Biochemistry, taxonomy and evolution of modern cultivated Citrus. In: Goren R. and K. Mendel, (eds.). *Proceedings of the Sixth International Society of Citriculture, 1,* 277–89.

Souza, D.C.L. (2015). Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 17(3),* 495-503. doi: 10.1590/1983-084X/13_071.

Tusa, N., Abbate, L., Ferrante, S., Lucretti, S., Scarano, M.T. (2002). Identification of zygotic and nucellar seedlings in citrus interploid crosses by means of isozymes, flow cytometry and ISSR-PCR. *Cellular and Molecular Biology Letters, 7,* 703-708.

Woo, J., Park, Y.Ch., Lee, J.W., Yun, S.H., Kim, M., Park, S., Lee, Y., Song, K.J., Kim, H.B. (2019). Evaluation of polyembryony for genetic resources and efficacy of simple sequence repeat markers for the

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

identification of nucellar and zygotic embryo-derived individuals in citrus. *Applied Biological Chemistry, 62(1),* 30. DOI: 101186/S13765-019-0437-1

Zucchi, M.I., Brondani, R.P.V., Pinheiro, J.B., Chaves, L.J., Coelho, A.S.G., Vencovsky, R. (2003). Genetic structure and gene flow in *Eugenia dysenterica* DC in the Brazilian Cerrado utilizing SSR markers. *Genetics and Molecular Biology, 26(4),* doi: 10.1590/ S1415-47572003000400008.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 25 (1): 25-46 (2024)
Research article

Identification of Nucellar and Zygotic Seedlings in Some *Citrus* Species Using SSR Technique

Mohammad Taher Hallajian[1*], Katayoun Dabbagh[2], Mojtaba Kordrostami[1], Ali Akbar Ghasemi-Soloklui[1]

1. Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran.
2. Department of Agricultural Biotechnology, Payam Noor University, Karaj, Iran
* Corresponding Author, Email: mthallajian@aeoi.org.ir

The majority of Citrus species and some related genera in this family produce nucellar embryos. Nucellar seedlings are similar to maternal parents. The existence of such embryos next to the embryo from fertilization leads to the polyembryony phenomenon which during that, two or few embryos are developed in one seed simultaneously. The nucellar embryo is a big obstacle in citrus breeding, however, the aim of producing genetic uniformity in stock production is valuable. In this study, for distinguishing between seedlings resulting from fertility and nucellar seedlings, a leaf sample was prepared from maternal plants and seedlings resulted from seeds of 11 citrus cultivars. After DNA extraction from samples, PCR was performed using 8 microsatellite primer pairs. The results indicated that 8 primer pairs were polymorphic for nucellar or zygotic traits of seedlings in 9 cultivars. The number of all alleles in the population was 45, and the range of alleles amplified by the primers was 3-11 with an average of 5.75. 35 alleles were polymorphic for nucellar or zygotic traits. Among polymorphic primers, TAA41 primer and TAA1 and TAA27 primers produced the highest number of alleles (11) and the lowest number of alleles (3) in studied cultivars, respectively. Polymorphic primers of this research especially TAA45 and TAA33 can be used to identify nucellar and zygotic seedlings of all citrus genotypes, cultivars, and hybrids in different breeding programs.

Keywords: Citrus, Zygotic and nucellar seedlings, PCR, Microsatellite markers, Primer.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-09-11]