مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۲ شماره ۴ صفحه های ۴۴۹ تا ۴۶۴ (۱۴۰۰)
مقاله پژوهشی

واکاوی مولکولی برخی نژادگان‌های انبه جنوب ایران براساس ناحیه بین ژنی *trnH-psbA*

Molecular Analysis of Some Mango Genotypes in Southern Iran Based on *trnH-psbA* Intergenic Region

عزیزالله شیرزایی، محمود سلوکی و لیلا فهمیده*[۳]

چکیده

انبه یکی از مهمترین میوه‌های قاره آسیا و مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر دنیاست. در پژوهش حاضر تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای ۳۰ نژادگان انبه از برخی مناطق دو استان جنوب کشور، کرمان و هرمزگان (رودان، منوجان، فاریاب، جیرفت، عنبرآباد، هیشین، دهکهان و بلوک) از راه ارزیابی ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* کلروپلاست مورد بررسی قرار گرفت. پس از نمونه‌برداری از برگ‌های جوان، استخراج DNA و PCR با استفاده از آغازگرهای ژن *trnH-psbA(IGS)* انجام شد. محصولات تکثیر شده مربوط به هر یک از نژادگان‌های مورد مطالعه، پس از تعیین توالی در پایگاه داده NCBI ثبت شدند. واکاوی‌ها و ترسیم دندروگرام روابط فیلوژنتیک و ماتریس تشابه توالی‌ها با نرم افزارهای Darwin، Popgene و Mega انجام شد تا روابط خویشاوندی و فاصله ژنتیکی بین نژادگان‌ها تعیین شود. تجزیه توالی‌ها نشان داد که در ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* در مجموع ۳۶۱ جایگاه شناسایی شد. بررسی شباهت توالی نمونه‌های انبه مورد بررسی با یکدیگر نشانگر یک توالی مشترک ۱۱۶ جفت بازی در میان آن‌ها بود. براساس دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، نژادگان‌ها در چهار گروه مختلف قرار گرفتند. بر اساس نتیجه‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* برای مطالعه و شناخت تنوع و روابط درون گونه‌ای انبه مفید بوده است.

واژه‌های کلیدی: انبه، تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای، DNA بارکدینگ، روابط فیلوژنتیک، نشانگر کلروپلاستی.

مقدمه

انبه با نام علمی (*Mangifera indica* L.) از تیره پسته‌سانان (Anacardiaceae) می‌باشد. تیره پسته‌سانان دارای ۸۳ جنس و ۸۶۰ گونه مختلف است که اغلب گونه‌های آن گرمسیری هستند. تاریخچه طولانی کشت، پراکنش وسیع در دنیا، ناسازگاری از پذیرش گرده خودی و درصد بالای دگرگرده‌افشانی باعث شده که تنوع ژنتیکی فراوانی درون رقم‌های انبه وجود داشته باشد (۲۵). با این حال مشکل اصلی که مطالعه‌های ژنتیکی انبه را محدود ساخته است، طولانی بودن دوره نونهالی و بزرگی اندازه درخت است. در مورد گیاهان دارای دوره نونهالی طولانی، یافتن همبستگی معنی‌دار مثبت یا منفی بین ویژگی‌هایی که زودتر بروز می‌نمایند با ویژگی‌های مهم دیگر در ارزیابی زود هنگام نژادگان‌ها حائز اهمیت می‌باشند (۷).

انبه در حدود ۴۰۰ سال پیش وارد ایران شده است، بسیاری بر این باورند که انبه بین قرن‌های چهارم و پنجم پیش از میلاد به آسیای شرقی رسیده است. از سده دهم میلادی، انبه توسط اعراب به شرق آفریقا و در قرن شانزدهم توسط پرتغالی‌ها

۱- تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۱۲

۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، استاد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل و دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران.
*نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (l.fahmideh@gau.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]
[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

به قاره آمریکا برده شد (۱۴). انبه افزون بر آنکه به عنوان میوه مورد استفاده قرار می‌گیرد در تهیه آب‌میوه، انواع غذاها و صنایع عطرسازی نیز به کار می‌رود. همچنین از میوه انبه فرآورده‌های مختلفی از جمله مربا، کمپوت و انواع مختلف چاشنی‌ها تهیه می‌شود و از میوه‌های نارس و کوچک انبه نیز در تهیه ترشی استفاده می‌شود. در مناطقی مانند هندوستان، مغز هسته انبه به صورت پودر درآمده و برای مصرف خوراکی استفاده می‌شود. همچنین میوه انبه دارای مقادیر زیادی فیبر، آنتی‌اکسیدان و ویتامین می‌باشد (۲۵). با توجه به این که تولید انبه در جنوب کشور محدود به مصارف شخصی و محلی می‌باشد و مبنای آن را همگروه‌های محلی و برخی نژادگان‌های وارداتی تشکیل می‌دهند، کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی میان افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی نژادگان‌های مورد نظر برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی، امکان سازماندهی ژرم‌پلاسم و نمونه‌گیری از نژادگان‌ها را فراهم می‌سازد (۱۵).

اصطلاح DNA بارکدینگ اولین بار در یک مقاله جامعه‌شناسی گیاهی به کاربرده شد. در این فن از توالی‌یابی یک ناحیه از DNA استفاده می‌شود (۱۰). تعیین یک ناحیه استاندارد DNA به عنوان بارکد از پیش شرط‌های اساسی در استفاده از این فن است. در این روش بخش کوچکی از ژنوم گیاه، توالی‌یابی شده و برای مطالعه تنوع جمعیت‌ها و تعیین روابط خویشاوندی بین گونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد. در جانوران ناحیه *COI* که یک ناحیه هسته‌ای میتوکندریایی است، به عنوان ناحیه بارکد پیشنهاد شده و در جامعه جهانی نیز پذیرفته شده است (۱۰)، در حالی که در مورد گیاهان پژوهشگران و دانشمندان در جستجوی پیشنهاد و ارائه یک ناحیه استاندارد به عنوان بارکد بودند که بر همین اساس در گیاهان هفت ناحیه مختلف از DNA هسته‌ای (*ITS*، *ITS2*) و کلروپلاستی (*rbcL*، *matK*، *trn*H-*psb*A، *rpoC1* و *rpoB*) به عنوان بارکد پیشنهاد شده است (۱۰). ناحیه بین ژنی *trn*H-*psb*A یک ناحیه کوتاه در حدود ۴۵۰ جفت بازی است و در بین تمامی گیاهان عالی تغییرپذیری به نسبت مناسبی دارد و این ناحیه ژنومی اولین بار در سال ۲۰۰۵ توسط Kress و همکاران (۱۰) معرفی شد. ناحیه بین ژنی *trn*H-*psb*A در بین سایر نواحی ژنی کلروپلاستی متغیرترین ناحیه است و در میان همه گیاهان عالی وجود داشته و به دلیل طول به نسبت کوتاهی که دارد، در بیشتر موراد به راحتی قابل تکثیر است (۱۰).

در پژوهشی Schnell و همکاران (۲۲) تعداد ۱۵ مکان ریزماهواره را از گونه *Mangifera indica* شناسایی کردند. با آزمایش آن‌ها روی ۵۹ رقم از فلوریدا و همچنین ۴ گونه دیگر از جنس *Mangifera* به این نتیجه رسیدند که ۱۳ مکان از آن‌ها دارای چندشکلی می‌باشند. نتیجه‌های این پژوهش حاکی از مفید بودن این نشانگرها به منظور تشخیص رقم‌ها و گونه های *Mangifera* بود. عمرانی‌پور و همکاران (۱۵) به منظور شناسایی تنوع ژنتیکی موجود در بین نژادگان‌های انبه ایران به کمک ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد، ۲۷ نژادگان انبه را مورد بررسی قرار دادند. اختلاف بین نژادگان‌های مورد ارزیابی از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی حاکی از وجود تنوع بالا در جمعیت مورد بررسی بود. تجزیه خوشه‌ای براساس ویژگی‌های مورد ارزیابی، نژادگان‌ها را در ۴ گروه مختلف طبقه‌بندی کرد. این در حالی است که ۱۶ نژادگان انبه جمع‌آوری شده از استان‌های کرمان و هرمزگان در یک گروه قرار گرفتند که این نشان‌دهنده نزدیکی ژنتیکی تعداد زیادی از نمونه‌های انبه استان‌های کرمان و هرمزگان بود. هاشمی سیستانی (۶) با بررسی ۲۹ نژادگان مختلف انبه مورد بررسی از سطح شهرستان‌های منوجان، عنبرآباد، فاریاب، جیرفت و رودان با استفاده از توالی‌یابی ژن *rbcl* گزارش کرد که به‌منظور جمع‌آوری ژرم پلاسم‌های انبه جهت بهره‌برداری‌های اصلاح نژادی، به شهرستان جیرفت توجه بیشتری شود.

چاپالاق پریدری و همکاران (۲) به منظور تعیین روابط فیلوژنتیکی جنس ممرز (*Carpinus*) در ایران از دو آغازگر هسته‌ای (*ITS*) و کلروپلاستی (*trnH- psbA*) استفاده کردند و نتیجه‌ها حاکی از کاراتر بودن آغازگر *ITS* نسبت به *trnH- psbA* در تفکیک و شناسایی گونه‌های این جنس بود. حسین‌زاده کلاگر و همکاران (۸) جایگاه تاکسونومیکی شاه بلوط شمال ایران را با استفاده از نشانگرهای مولکولی *psbA* و ناحیه بین ژنی *trnH-psbA* مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها در مجموع نتیجه گرفتند که *trnH-psbA* و *psbA* می‌توانند در فن DNA بارکدینگ، به عنوان روشی آسان و سریع برای شناسایی جایگاه تاکسونومیکی شاه بلوط‌های شمال ایران مورد توجه پژوهشگران قرار گیرند.

با توجه به اینکه بیشتر رقم‌های انبه که امروزه در کشور کشت و کار می‌شوند از کشورهای پاکستان و هندوستان وارد و در مناطق مختلف به نام‌های متفاوت نامگذاری شده‌اند، گاهی نژادگان‌هایی که حتی ظاهر مشابهی ندارند دارای نام واحد می‌باشند که تشخیص آن‌ها را مشکل ساخته است. افزون بر آن، گرده‌افشانی آزاد باعث تولید مجموعه‌ای متفاوت از این

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

نمونه‌ها در کشور شده است (۱۵). از آنجا که در زمینه بررسی روابط خویشاوندی و ژنتیکی بین نژادگان‌های انبه کشور و همچنین تعیین میزان نزدیکی آن‌ها با استفاده از نشانگرهای ژنتیکی مناسب، کار چندانی صورت نگرفته است، بنابراین، هدف از پژوهش حاضر تعیین فاصله ژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد بررسی، تعیین شباهت و دسته‌بندی نژادگان‌ها براساس ناحیه بین ژنی *trn*H-*psb*A، همچنین ترسیم درخت فیلوژنتیکی نژادگان‌های انبه و مقایسه آنها با یکدیگر و با برخی گیاهان هم خانواده بود تا از این طریق بر دانش موجود از این مخزن ژنی افزوده گردد و بتوان از آن برای مدیریت مناسب‌تر این مجموعه استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه

در پژوهش حاضر ۳۰ نژادگان مختلف انبه (جدول ۱) از مناطق مختلف شهرستان‌های منوجان (مرکز تحقیقات شهرستان منوجان، روستای دهکهان)، عنبر آباد (مرکز شهر عنبرآباد)، فاریاب و جیرفت (روستای هیشین، بلوک، مرکز شهر) واقع در استان کرمان و شهرستان رودان واقع در استان هرمزگان جهت بررسی انتخاب شدند. پس از بازدید منطقه‌ای و انتخاب درختان به طور تصادفی، برچسب‌زنی و ترسیم نشانی صورت گرفت و محل دقیق هر درخت رسم شد. سپس، نمونه گیاهی برای استخراج DNA تهیه شد. نمونه برداری در انتهای بهار و از برگ‌های جوان (جست‌های رشدی جوان) که ۲ تا ۳ هفته عمر داشتند، انجام شد. از هر درخت به طور تصادفی سه نمونه برگ توسط تیغ گندزدایی‌شده بریده شده و سپس داخل شیشه‌های درب‌دار برچسب‌دار، حاوی نام رقم، محل و تاریخ نمونه‌برداری قرار داده شد. به علت گرما و مسافت طولانی محل‌های نمونه برداری تا آزمایشگاه پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل (محل انجام آزمایش‌ها)، نمونه‌های برگی در جعبه‌های ویژه حاوی سیلیکاژل قرار داده شده و به آزمایشگاه منتقل شدند.

جدول ۱- ویژگی‌های نژادگان‌های انبه مورد مطالعه.

Table 1. Characteristics of studied mango genotypes.

شماره نژادگان Genotype number	نام فارسی Farsi name	نشانه اختصاری Symbol	موقعیت منطقه Location of the area	ارتفاع از سطح دریا Height above sea level (m)	عرض جغرافیایی Latitude (North)	طول جغرافیایی Longitude (Eastern)	میانگین بارندگی Average rainfall (ml)	متوسط دمای روزانه Average daily temperature (C)
1	هلو	Helov	جیرفت	685	28° 40'	57° 44'	190	25-26
2	نارگیل	Nargil	جیرفت	685	28° 40'	57° 44'	190	25-26
3	آل مهتری	Am	جیرفت	685	28° 40'	57° 44'	190	25-26
4	خنیزی	Kn	جیرفت	685	28° 40'	57° 44'	190	25-26
5	خلو	Khh	هیشین	1320	28° 20'	58° 25'	230	25-24
6	شاهانی1	Shahani1	هیشین	1320	28° 20'	58° 25'	230	25-24
7	شاهانی2	Shahani2	هیشین	1320	28° 20'	58° 25'	230	25-24
8	کیلو	Kiloo	عنبر آباد	640	27°34'	58° 25'	180	27
9	مش کریم	Mk	عنبر آباد	640	27°34'	58° 36'	180	27
10	بینام	Anonym	عنبر آباد	640	'34°27	'36° 58	180	27
11	نباتی1	Nabati1	منوجان	340	'24° 27	'30° 57	180	26
12	نباتی2	Nabati2	منوجان	340	'24° 27	'30° 57	180	26
13	پودنه‌ای	Podney	منوجان	340	'24° 27	'30° 57	180	26
14	اربابی	Arbabi	منوجان	340	'24° 27	'30° 57	180	26
15	دوقلو	Dogholo	منوجان	340	'24° 27	'30° 57	180	26
16	بینام1	Anonym1	دهکهان	460	'19° 27	'17° 57	170	27-26

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

17	حاجی غلام	Haji	دهکهان	460	'19° 27	'17° 57	170	27-26
18	خیار2	Khiyar2	دهکهان	460	'19° 27	'17° 57	170	27-26
19	خیار1	Khiyar1	دهکهان	460	'19° 27	'17° 57	170	27-26
20	میخکی2	Mikhaki2	رودان	195	'27° 27	'11° 57	250	28-27
21	میخکی1	Mikhaki1	رودان	195	'27° 27	'11° 57	250	28-27
22	چارک	Charak	رودان	195	'27° 27	'11° 57	250	28-27
23	خاروست	Kharvst	رودان	195	'27° 27	'11° 57	250	28-27
24	زاپاک	Zapak	رودان	195	'27° 27	'11° 57	250	28-27
25	مجلسی1	Majlesi1	فاریاب	500	'38° 27	'25° 57	250	26
26	مجلسی2	Majlesi2	فاریاب	500	'38° 27	'25° 57	250	26
27	زرک	Zarak	فاریاب	500	'38° 27	'25° 57	250	26
28	انبه گل	Gol	بلوک	650	'52° 27	'40° 57	160	27
29	خلو	Khb	بلوک	650	'52° 27	'40° 57	160	27
30	بینام 2	Anonym2	بلوک	650	'52° 27	'40° 57	160	27

استخراج و تکثیر DNA

استخراج DNA از برگ‌های جوان درخت انبه با استفاده از روش Dellaporta و همکاران (۳) انجام شد و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد در مدت زمان ۶۰ دقیقه با ولتاژ ۸۰ بررسی شد. کمیت این DNA با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل Unico USA UV-2100 سنجیده شد. واکنش PCR با استفاده از آغازگر ژن (*IGS*) *trnH-psbA* (جدول ۲) و با استفاده از دستگاه Eppendorf (22331 Humburg) در حجم ۴۵ میکرولیتر انجام شد. واکنش نهایی شامل ۱/۵ میکرولیتر از هر آغازگر،۱۵ میکرولیتر مستر میکس (۲X) (شرکت پیشگام)، ۶ میکرولیتر DNA الگو و ۲۱ میکرولیتر آب دیونیزه شده بود. چرخه حرارتی بدین صورت تنظیم شد که یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت شش دقیقه، ۳۵ چرخه تکثیر (تک‌رشته‌ای شدن DNA در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه؛ اتصال آغازگر به DNA تک‌رشته‌ای در دمای ۶۱/۳ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۵ ثانیه: بسط آغازگر در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۵۰ ثانیه) و یک چرخه بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. محصول‌های تولیده شده PCR با استفاده از ژل آگاروز ۱/۵ درصد به مدت ۶۰ دقیقه و با ولتاژ ۸۰، الکتروفورز شدند. رنگ‌آمیزی ژل با ژل رد (Sambio انگلستان) انجام و از دستگاه ترانسلومیناتور (vilber – lourmat (E- Box- VX2- 20m نیز جهت نمایان شدن باندها استفاده شد.

جدول ۲- توالی آغازگرهای ژن *trnH-psbA*

Table 2. The primer sequence of *tranH-psbA* gene.

نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر Primer sequence	منبع Reference
psbA3_f	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	Sang *et al*., 1997
trnHf_05	CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	Tate and Simpson, 2003

تعیین توالی ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* در نمونه‌های انبه مورد بررسی و مقایسه آن‌ها با برخی گیاهان هم خانواده

محصول واکنش PCR به شرکت پیشگام جهت ارسال به شرکت ماکروژن کره جنوبی فرستاده شد. سپس نتیجه‌های حاصل از توالی‌یابی نمونه‌های مورد بررسی برای انجام واکاوی بیوانفورماتیکی داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت و در پایگاه داده NCBI ثبت گردید. همچنین در ادامه، به منظور تعیین رابطه فیلوژنتیکی نژادگان‌های انبه (*Mangifera indica*) مورد آزمایش با چند گونه گیاهی هم‌خانواده انبه (*Anacardiaceae*) مانند درخت پر (*Cotinus coggygri*)، درخت موم ژاپنی (*Toxicodendron succedaneum*)، درخت شرنگ‌دار فلوریدا (*Metopium toxiferum*)، *Pistacia lentiscus*، *Pistacia*

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

weinmaniifolia، *Trichoscypha preussii*، *Anacardium occidental*، *Schinopsis brasiliensis* و *Astronium graveolens* مورد ارزیابی قرار گرفت.

واکاوی داده‌ها

واکاوی داده‌های مولکولی براساس نتیجه‌های توالی‌یابی دریافتی از شرکت و با نرم افزارهای Darwin، Popgene، DNAsp و Mega مورد ارزیابی قرار گرفت و روابط خویشاوندی و فاصله ژنتیکی بین‌نژادگان‌ها تعیین گردید. به منظور تعیین روابط فیلوژنتیکی نمونه‌های انبه مورد آزمایش از تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. انتخاب روش تجزیه خوشه‌ای بر پایه محاسبه ضریب همبستگی کوفنتیک انجام شد. بیشترین ضریب همبستگی کوفنتیک محاسبه شده برای روش الگوی خوشه‌بندی NJ (Neighbor Joining) به دست آمد، بنابراین در ادامه از روش NJ استفاده شد.

نتایج

نتیجه‌های بررسی کیفیت تعیین توالی ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* در نمونه‌های انبه مورد بررسی

کیفیت مناسب نمودارها که نشانگر دقت قابل توجه در تعیین توالی نمونه‌ها می‌باشد مورد بررسی قرار گرفت و بازنگری کیفیت توالی‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار Chromas انجام شد. نمونه‌ای از نمودارهای حاصل از توالی‌یابی ژن *tranH-psbA* در نژادگان هلو به عنوان نمونه در شکل ۱ نشان داده شده است.

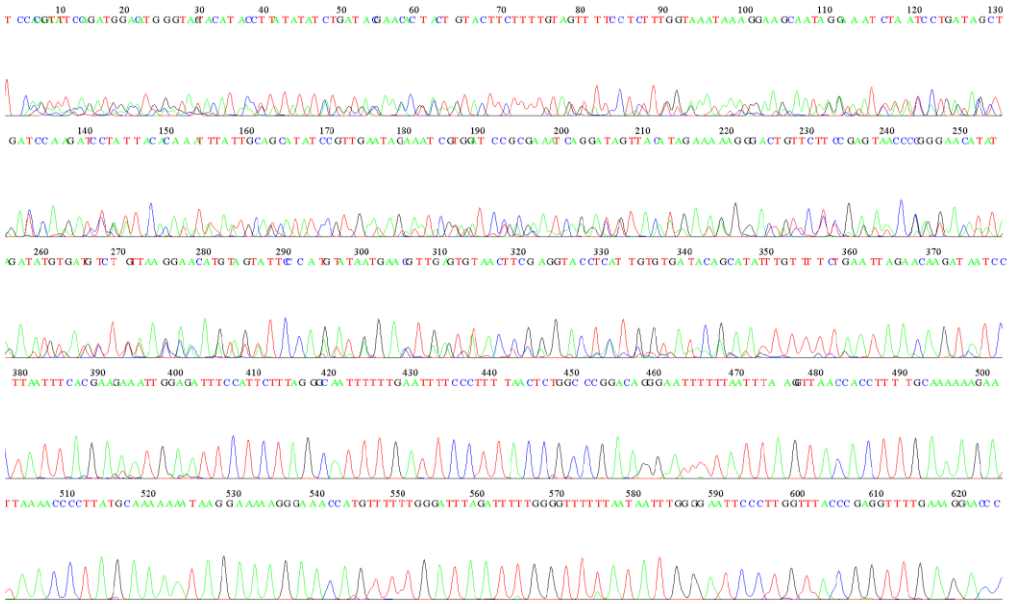


Fig. 1. The graph of sequencing results of *tranH-psbA* gene in Helov cultivar.

شکل ۱- نمودار توالی‌یابی ژن *tranH-psbA* در رقم هلو (Helov).

همترازی ناحیه بین‌ژنی ***trnH-psbA*** در نمونه‌های انبه مورد بررسی

پس از تعیین توالی ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA*، میزان شباهت توالی نمونه‌های انبه مورد بررسی، مقایسه شد و پس از مشاهده میزان شباهت زیاد این توالی با دیگر توالی ثبت شده در پایگاه داده NCBI و تایید اینکه این توالی‌ها مربوط به انبه بوده است، بقیه مراحل مورد نیاز انجام گردید. نتیجه‌های حاصل وجود توالی مشترک در میان تمامی نژادگان‌های مورد بررسی انبه بود. این توالی مشترک عبارت بود از:

3 TTTCTTTGCAAAGGGTCGGTATTGCTCCGTTATTTAGTAGTTTTTTATTT 5
5 ACATACGTTTCGTTTGGTTGTTTGTTTTTCAACAAAACAAAATTTTCTGC 3

نتیجه‌های توالی‌یابی نژادگان‌های مورد بررسی سپس در پایگاه داده NCBI ثبت گردید که ویژگی‌های ثبت و شماره دسترسی هر کدام از توالی‌های ثبت شده در جدول ۴ آورده شده است.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

جدول ۳- نتیجه‌های توالی‌یابی نژادگان‌ها پس از تعیین توالی در پایگاه داده NCBI.

Table 3. Sequencing results of genotypes after sequencing in the NCBI database.

شماره نژادگان Genotype number	نام فارسی Farsi name	علامت اختصاری Symbol	شماره دسترسی Accession number	شماره نژادگان Genotype number	نام فارسی Farsi name	علامت اختصاری Symbol	شماره دسترسی Accession number
1	هلو	Helov	LC416716	16	بینام 1	Anonym1	LC416731
2	نارگیل	Nargil	LC416717	17	حاجی غلام	Haji	LC416732
3	آل مهتری	Am	LC416718	18	خیار 2	Khiyar2	LC416733
4	خنیزی	Kn	LC416719	19	خیار 1	Khiyar1	LC416734
5	خلو	Khh	LC416720	20	میخکی 2	Mikhaki2	LC416735
6	شاهانی 1	Shahani1	LC416721	21	میخکی 1	Mikhaki1	LC416736
7	شاهانی 2	Shahani2	LC416722	22	چارک	Charak	LC416737
8	کیلو	Kiloo	LC416723	23	خاروست	Kharvst	LC416738
9	مش کریم	Mk	LC416724	24	زاپاک	Zapak	LC416739
10	بینام	Anonym	LC416725	25	مجلسی 1	Majlesi1	LC416740
11	نباتی 1	Nabati1	LC416726	26	مجلسی 2	Majlesi2	LC416741
12	نباتی 2	Nabati2	LC416727	27	زرک	Zarak	LC416742
13	پودنه‌ای	Podney	LC416728	28	انبه گل	Gol	LC416743
14	اربابی	Arbabi	LC416729	29	خلو	Khb	LC416744
15	دوقلو	Dogholo	LC416730	30	بینام 2	Anonym2	LC416745

واکاوی توالی‌های نوکلئوتیدی

جانشینی نوکلئوتیدی براساس الگوی Tamura-Nei model (۲۴) و به صورت میزان جانشینی‌های نوع انتقالی و متقاطع با استفاده از نشانگر *trnH-psbA* بررسی شد. بیشترین میزان انتقال از نوع پورین (۴/۹۲ درصد) و کمترین میزان از نوع پیریمیدین (۱/۹۰ درصد) بود (جدول ۵).

جدول ۴- جانشینی نوکلئوتیدی به‌صورت میزان جانشین‌های نوع انتقالی و متقاطع.

Table 4. Nucleotide replacement as a transition and transversion.

	A	T/U	C	G
A	-	*16.01*	*5.62*	**3.46**
T/U	*12.05*	-	**1.90**	*8.47*
C	*12.05*	**5.40**	-	*8.47*
G	**4.92**	*16.01*	*5.62*	-

احتمال جایگزینی هر ورودی از یک پایه (ردیف) به پایه دیگر (ستون) است. در این جدول درصد جایگزینی همجنس (جایگزینی پورین با پورین دیگر و یا پیریمیدین با پیریمیدین دیگر) به صورت ضخیم و جایگزینی ناهمجنس (جایگزینی پورین به پیریمیدین و برعکس) به صورت مورب نشان داده شده است.

همچنین، نسبت نوکلئوتیدهای مختلف به کل نوکلئوتیدها محاسبه شد که به طور میانگین نسبت تیمین ۳۷/۶، سیتوزین ۱۳/۵، آدنین ۲۸/۵، گوانین ۲۰/۴ درصد درون جمعیت به دست آمد (جدول ۶).

نتیجه‌های محاسبه‌های شاخص‌های ژنتیکی براساس ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA*

نتیجه‌های تجزیه توالی‌های به دست آمده براساس ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* و به کمک نرم افزار DNAsp در مجموع ۳۶۱ جایگاه مختلف را نشان داد که ۳۴۴ جایگاه دارای حذف و اضافه بودند که در میان آن‌ها ۳۱۳ جایگاه تک شکل و ۳۱ جایگاه چندشکل شناخته شد. همچنین، ۱۷ جایگاه بدون حذف و اضافه تشخیص داده شد. در جمعیت مورد بررسی ۱۷ سینگلتون و ۱۹ هاپلوتایپ شناسایی شد و شاخص تنوع هاپلوتایپی نیز ۰/۸۹ بود.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

در پژوهش حاضر نسبت dN/dS، ۱/۷۶ محاسبه شد. نتیجه‌های حاصل از تغییرهای نوکلئوتیدی که سبب تغییر در اسیدهای آمینه می‌شوند (dN) نسبت به تغییرهایی که بر اسیدهای آمینه بی‌تاثیر هستند (dS)، یک شاخص مهم برای شناخت روند طبیعی در طول تکامل ژن‌ها است. اگر این نسبت بیشتر از یک باشد انتخاب مثبت، اگر کمتر از یک باشد انتخاب خالص و اگر برابر یک باشد انتخاب خنثی را در طی تکامل این ژن‌ها نشان می‌دهد (۱۱).

جدول ۵- نسبت نوکلئوتیدهای مختلف به کل نوکلئوتیدها براساس ناحیه *trnH-psbA*.

Table 5. The ratio of different nucleotides to total nucleotides based on the *trnH-psbA* region.

شماره نژادگان Genotype Number	نام فارسی Farsi Name	علامت اختصاری Symbol	T(U)	C	A	G	Total
1	هلو	Helov	37.2	13.8	28.5	20.6	355.0
2	نارگیل	Nargil	37.4	13.2	28.7	20.8	356.0
3	آل مهتری	Am	37.5	13.7	28.6	20.2	357.0
4	خنیزی	Kn	37.4	13.8	28.7	20.2	356.0
5	خلو	Khh	37.4	13.8	28.7	20.2	356.0
6	شاهانی 1	Shahani1	37.3	12.9	28.9	21.0	357.0
7	شاهانی 2	Shahani2	37.6	13.2	28.4	20.8	356.0
8	کیلو	Kiloo	37.4	13.5	28.4	20.8	356.0
9	مش کریم	Mk	37.6	14.0	28.1	20.2	356.0
10	بینام	Anonym	37.3	13.7	28.6	20.4	357.0
11	نباتی 1	Nabati1	37.7	13.5	28.5	20.3	355.0
12	نباتی 2	Nabati2	37.4	13.8	28.4	20.5	356.0
13	پودنه‌ای	Podney	37.4	13.5	28.9	20.2	356.0
14	اربابی	Arbabi	37.4	13.5	28.9	20.2	356.0
15	دوقلو	Dogholo	37.7	13.8	28.5	20.0	355.0
16	بینام 1	Anonym1	37.5	13.5	28.7	20.3	355.0
17	حاجی غلام	Haji	38.4	13.6	28.0	20.1	354.0
18	خیار 2	Khiyar2	37.5	13.5	28.7	20.3	355.0
19	خیار 1	Khiyar1	37.1	13.5	28.9	20.5	356.0
20	میخکی 2	Mikhaki2	37.4	13.8	28.4	20.5	356.0
21	میخکی 1	Mikhaki1	37.3	13.4	28.3	21.0	357.0
22	چارک	Charak	38.9	13.5	26.8	20.8	355.0
23	خاروست	Kharvst	37.8	13.4	28.9	19.9	357.0
24	زاپاک	Zapak	37.7	13.5	28.5	20.3	355.0
25	مجلسی 1	Majlesi1	37.5	13.5	28.7	20.3	355.0
26	مجلسی 2	Majlesi2	38.2	13.2	28.7	19.9	356.0
27	زرک	Zarak	39.2	13.6	27.6	19.6	352.0
28	انبه گل	Gol	37.4	13.5	28.9	20.2	356.0
29	خلو	Khb	37.4	13.1	29.1	20.4	358.0
30	بینام 2	Anonym2	37.9	13.3	28.8	20.1	354.0
میانگین			37.6	13.5	28.5	20.4	355.7

بررسی روابط فیلوژنتیکی نمونه‌های انبه مورد بررسی

به منظور تعیین روابط فیلوژنتیکی نمونه‌های انبه مورد آزمایش از تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. درخت فیلوژنتیکی حاصل از تعیین توالی ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* در نمونه‌های انبه به روش NJ در شکل ۲ نشان داده شده است.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

در گروه‌بندی نژادگان‌ها به روش NJ نژادگان‌ها در ۴ گروه مختلف قرار گرفتند. نژادگان چارک از رودان در گروه اول، زرک و مجلسی۲ از فاریاب در گروه دوم، حاجی غلام از دهکهان در گروه سوم و بقیه ۲۶ نژادگان انبه مورد بررسی در گروه چهارم قرار گرفتند.

در گروه‌بندی نژادگان‌ها در گروه چهارم، نژادگان‌های اربابی (منوجان)، میخکی۲ (رودان)، خلو (بلوک)، بینام (عنبرآباد)، انبه گل (بلوک)، پودنه‌ای (منوجان)، خلو (هیشین)، زاپاک (رودان)، خنیزی (جیرفت) و خیار۲ (دهکهان) از نظر ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* در یک زیر گروه قرار گرفتند. همچنین نژادگان‌های نباتی۱ از منطقه منوجان و مجلسی۱ از فاریاب و نژادگان‌های دوقلو و خاروست به ترتیب از مناطق منوجان و رودان تفاوت ژنتیکی نداشتند و در یک زیر گروه قرار گرفتند.

فواصل ژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد بررسی نیز در جدول ۷ آورده شده است. بر اساس نتیجه‌های به دست آمده، نژادگان‌های خیار۱ از منطقه دهکهان و آل‌مهتری از منطقه جیرفت، دوقلو و خاروست، نباتی۱ و مجلسی۱ و اربابی، میخکی۲، خلو، بینام، انبه گل، پودنه‌ای، خلو، زاپاک، خنیزی و خیار۲ نسبت به سایر نمونه‌های انبه مورد بررسی، در فاصله ژنتیکی کمتری از یکدیگر قرار داشتند. نتیجه‌ها همچنین نشان داد که نژادگان‌های هلو و بینام۱ به ترتیب از مناطق جیرفت و دهکهان فاصله ژنتیکی کمی از یکدیگر داشتند. همچنین از نظر ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* نژادگان‌های نارگیل از جیرفت و چارک از رودان و همچنین چارک و بینام۲ از منطقه بلوک با ضریب ۰/۰۵۷۹ دارای بیشترین فاصله ژنتیکی از یکدیگر بودند.

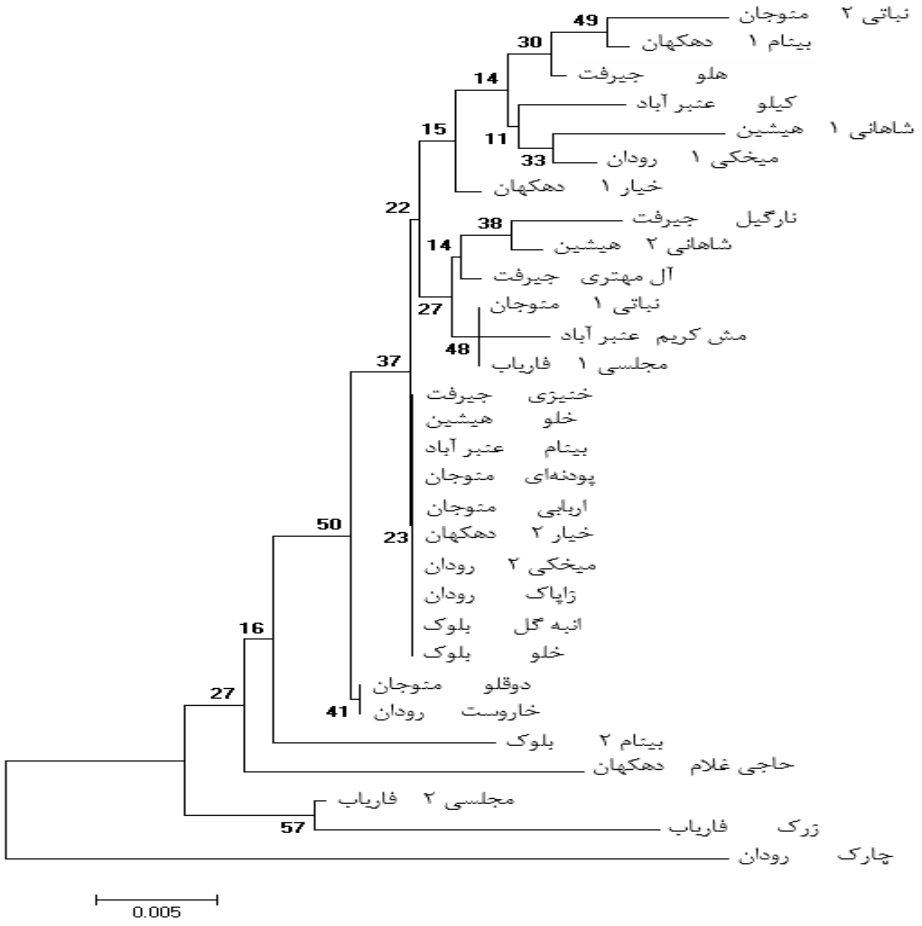


Fig. 2. The phylogenetic tree of studied mango genotypes based on the results of sequencing of *trnH-psbA* region by NJ method.

شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد مطالعه براساس نتیجه‌های تعیین توالی ناحیه *trnH-psbA* به روش NJ.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

جدول ۶- فاصله ژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد مطالعه.

Table 6. Genetic distance of studied mango genotypes.

شماره Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	.0000														
2	.0147	.0000													
3	.0088	.0058	.0000												
4	.0058	.0088	.0029	.0000											
5	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000										
6	.0118	.0147	.0147	.0147	.0147	.0000									
7	.0117	.0058	.0058	.0058	.0058	.0088	.0000								
8	.0088	.0177	.0117	.0088	.0088	.0147	.0147	.0000							
9	.0117	.0117	.0058	.0058	.0058	.0147	.0058	.0147	.0000						
10	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000					
11	.0088	.0088	.0029	.0029	.0029	.0117	.0029	.0117	.0029	.0029	.0000				
12	.0088	.0117	.0117	.0147	.0147	.0118	.0117	.0118	.0177	.0147	.0147	.0000			
13	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000	.0029	.0147	.0000		
14	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000	.0029	.0147	.0000	.0000	
15	.0088	.0117	.0058	.0029	.0029	.0177	.0088	.0117	.0088	.0029	.0058	.0177	.0029	.0029	.0000
16	.0029	.0177	.0117	.0088	.0088	.0147	.0147	.0059	.0147	.0088	.0117	.0058	.0088	.0088	.0117
17	.0267	.0298	.0237	.0207	.0207	.0359	.0267	.0298	.0267	.0207	.0237	.0359	.0207	.0207	.0177
18	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000	.0029	.0147	.0000	.0000	.0029
19	.0058	.0117	.0058	.0029	.0029	.0147	.0088	.0058	.0088	.0029	.0058	.0147	.0029	.0029	.0058
20	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000	.0029	.0147	.0000	.0000	.0029
21	.0088	.0147	.0088	.0088	.0088	.0088	.0088	.0058	.0088	.0088	.0058	.0147	.0088	.0088	.0117
22	.0485	**.0579**	.0515	.0484	.0484	.0546	.0547	.0391	.0547	.0484	.0515	.0517	.0484	.0484	.0515
23	.0088	.0117	.0058	.0029	.0029	.0177	.0088	.0117	.0088	.0029	.0058	.0177	.0029	.0029	.0000
24	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000	.0029	.0147	.0000	.0000	.0029
25	.0088	.0088	.0029	.0029	.0029	.0117	.0029	.0117	.0029	.0029	.0000	.0147	.0029	.0029	.0058
26	.0207	.0237	.0177	.0147	.0147	.0297	.0206	.0237	.0206	.0147	.0177	.0297	.0147	.0147	.0117
27	.0358	.0388	.0327	.0297	.0297	.0450	.0358	.0327	.0358	.0297	.0327	.0388	.0297	.0297	.0267
28	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000	.0029	.0147	.0000	.0000	.0029
29	.0058	.0088	.0029	.0000	.0000	.0147	.0058	.0088	.0058	.0000	.0029	.0147	.0000	.0000	.0029
30	.0207	.0237	.0177	.0147	.0147	.0297	.0206	.0237	.0206	.0147	.0177	.0297	.0147	.0147	.0117

شماره‌ها براساس ترتیب نژادگان‌ها در جدول ۱ می‌باشند.

The numbers are based on the order of genotypes in Table 1.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

جدول ۶- ادامه.

Table 6. Continued.

شماره Numbe	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
16	.0000														
17	.0298	.0000													
18	.0088	.0207	.0000												
19	.0088	.0237	.0029	.0000											
20	.0088	.0207	.0000	.0029	.0000										
21	.0117	.0297	.0088	.0058	.0088	.0000									
22	.0454	.0517	.0484	.0453	.0484	.0452	.0000								
23	.0117	.0177	.0029	.0058	.0029	.0117	.0515	.0000							
24	.0088	.0207	.0000	.0029	.0000	.0088	.0484	.0029	.0000						
25	.0117	.0237	.0029	.0058	.0029	.0058	.0515	.0058	.0029	.0000					
26	.0237	.0237	.0147	.0177	.0147	.0236	.0515	.0117	.0147	.0177	.0000				
27	.0327	.0389	.0297	.0327	.0297	.0388	.0484	.0267	.0297	.0327	.0147	.0000			
28	.0088	.0207	.0000	.0029	.0000	.0088	.0484	.0029	.0000	.0029	.0147	.0297	.0000		
29	.0088	.0207	.0000	.0029	.0000	.0088	.0484	.0029	.0000	.0029	.0147	.0297	.0000	.0000	
30	.0237	.0237	.0147	.0177	.0147	.0236	**.0579**	.0117	.0147	.0177	.0117	.0267	.0147	.0147	.0000

شماره‌ها براساس ترتیب نژادگان‌ها در جدول ۱ می‌باشند.

The numbers are based on the order of genotypes in Table 1.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

بر اساس داده‌های تعیین توالی ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA*، رابطه فیلوژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد آزمایش با چند گونه گیاهی دیگر که همگی هم‌خانواده انبه (*Anacardiaceae*) هستند مانند درخت پر (*Cotinus coggygri*)، درخت موم ژاپنی (*Toxicodendron succedaneum*)، درخت شرنگ‌دار فلوریدا (*Metopium toxiferum*)، *Pistacia lentiscus*، *Pistacia weinmaniifolia*، *Trichoscypha preussii*، *Anacardium occidental*، *Schinopsis brasiliensis* و *Astronium graveolens* نیز مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۳). برش دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به دو شاخه تقسیم می‌شود که گیاه درخت پرزا (*Cotinus coggygri*) و گیاه *Trichoscypha preussii* با کمترین فاصله نسبت به انبه مورد مطالعه قرار می‌گیرند. سپس درخت شرنگ‌دار فلوریدا (*Metopium toxiferum*) با درخت موم ژاپنی (*Toxicodendron succedaneum*) و همچنین جنس *Pistacia* نسبت به انبه مورد مطالعه در فاصله دورتر قرار دارند. این نتیجه‌ها نشان داد که از نظر ناحیه ژنومی مورد مطالعه، نژادگان‌های انبه مورد بررسی نسبت به گونه‌های گیاهی دیگر در فاصله به نسبت قابل توجهی قرار گرفته‌اند.

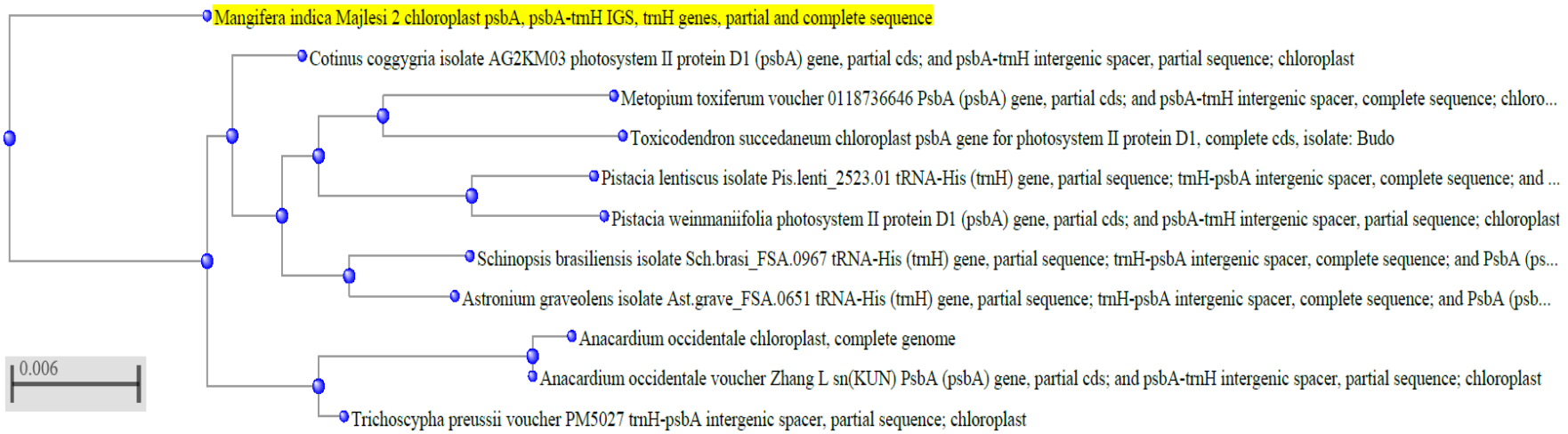
بحث

نتیجه‌های حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که این بارکد توانایی تفکیک و دسته‌بندی ۳۰ نژادگان انبه مورد استفاده را دارا بود که با نتیجه‌های به دست آمده توسط سایر پژوهشگران مانند قهرمانزاده (۴) برای ارزیابی برخی از گونه‌های مهاجم و بومی علف هرز، حسین زاده کلاگر و همکاران (۸) برای تشخیص جایگاه تاکسونومیکی شاه بلوط شمال ایران و همچنین قهرمانزاده و همکاران (۵) به منظور تشخیص گونه‌های ۸۱ نمونه متعلق به ۱۳ گونه مختلف از جنس *Myriophyllum*، که از این بارکد DNA استفاده کرده بودند، همخوانی داشت.

در این مطالعه با مقایسه فواصل ژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد آزمایش با مکان‌هایی که این نمونه‌ها از آنجا جمع‌آوری شده بودند، نشان داد که ارتباطی میان مکان‌های جغرافیایی گیاهان انبه با فواصل ژنتیکی آن‌ها وجود نداشت که این نتایج با نتیجه‌های پژوهش سایر پژوهشگران مشابه، است؛ از جمله Majumder و همکاران (۱۳) که با مطالعه تنوع ژنتیکی ۶۰ نمونه انبه از نقاط مختلف کشور بنگلادش توسط نشانگرهای آیزوزایم، نشان داده بودند که در جمعیت مورد بررسی، تنوع ژنتیکی، تابع تنوع جغرافیایی نبود. همچنین پژوهش Ravishankar و همکاران (۲۰) که با مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۶۹ رقم انبه از کشور هند توسط نشانگرهای STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site) گزارش کرده بودند که در پژوهش آن‌ها در اغلب موارد فواصل ژنتیکی با فواصل جغرافیایی مطابقت نداشت. Luo و همکاران (۱۲) با بررسی تنوع ژنتیکی ۲۳ رقم انبه از کشور چین با نشانگرهای SCoT و ISSR و Rajwana و همکاران (۱۸) با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۵ رقم و نژادگان انبه پاکستان به وسیله نشانگرهای RAPD نتیجه‌های مشابهی را مبنی بر عدم همخوانی تنوع ژنتیکی و جغرافیایی گزارش کردند. این در حالی است که Paing Htway و همکاران (۱۶) با مطالعه تنوع ژنتیکی ۶۰ نژادگان انبه از ۳ منطقه مختلف کشور میانمار به وسیله نشانگرهای SSR نشان دادند که در جمعیت مورد مطالعه آن‌ها تنوع ژنتیکی تا اندازه زیادی از تنوع جغرافیایی تبعیت می‌کرد. در پژوهش دیگری شمیلی و همکاران (۲۳) با بررسی تنوع ژنتیکی ۴۸ صفت کمی و کیفی در ۴۸ نژادگان انبه گزارش کردند که تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ویژگی‌های مورد بررسی توانست نژادگان‌های مورد ارزیابی را به دو گروه اصلی شامل نژادگان‌های هندی و پاکستانی تفکیک نماید. این نشان می‌دهد که در مطالعه آن‌ها نیز تنوع ژنتیکی بر پایه ویژگی‌های کمی و کیفی، از تنوع جغرافیایی پیروی می‌کرده است. به نظر می‌رسد با توجه به آنکه تاکنون در گیاه انبه در زمینه ارتباط تنوع ناحیه بین ژنی *trn*H-*psb*A با تنوع جغرافیایی هیچگونه مطالعه‌ای انجام نشده است، آزمایش‌هایی با حضور تعداد بیشتری نژادگان و از نقاط جغرافیایی مختلف می‌تواند اطلاعات کامل‌تری را در اختیار ما بگذارد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]



شکل ۳- درخت فیلوژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد مطالعه در مقایسه با گونه‌های دیگر گیاهی در تیره انبه براساس نتیجه‌های تعیین توالی ناحیه *trnH-psbA* .

Figure 3. The phylogenetic tree of studied mango genotypes compared to the other plant species in Anacardiaceae family based on the results of sequencing of *trnH-psbA* region.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

ویژگی‌های ذاتی گیاه انبه از جمله ناسازگاری از پذیرش گرده خودی و درصد بالای دگرگشنی از دلایلی هستند که تنوع ژنتیکی قابل توجهی را برای این گیاه به بار آورده‌اند. تاریخچه طولانی کشت و پراکنش وسیع گیاه انبه در نقاط مختلف دنیا نیز از دلایل دیگر وجود تنوع فراوان در گیاه انبه می‌باشند (۲۵) که در مطالعه حاضر نیز با بررسی ۳۰ نژادگان انبه مورد مطالعه، مشخص شد که بین نژادگان‌های مورد مطالعه تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای بالایی وجود دارد که این نتیجه‌ها با یافته‌های پژوهشگران زیادی همخوانی دارد. اغلب بررسی‌های گذشته از جمله راستگو (۱۹) با بررسی تنوع ژنتیکی دانهال‌های انبه استان هرمزگان در مناطق میناب و سیاهو با استفاده از ۵۵ صفت مورفولوژیکی و فیزیکوشیمیایی، همچنین شمیلی و همکاران (۲۳) با مطالعه تنوع ژنتیکی برخی ویژگی‌های کمی، کیفی و عملکرد درخت در ۴۸ نژادگان انبه از نقاط مختلف، نشان دادند که گیاه انبه از تنوع درون گونه‌ای قابل توجهی برخوردار است. عمرانی پور و همکاران (۱۵) با ارزیابی تنوع ژنتیکی موجود در بین نژادگان‌های انبه جنوب ایران به کمک ویژگی‌های ریخت شناسی و عملکرد، Human و همکاران (۹) با مطالعه ویژگی‌های مختلف کمی و کیفی میوه و عملکرد درخت ۵۲ رقم انبه و Majumder و همکاران (۱۳) با بررسی تنوع ژنتیکی ۶۰ نژادگان و رقم انبه از کشور بنگلادش با استفاده از نشانگرهای آیزوزایم، نشان دادند که تنوع درون گونه‌ای در گیاه انبه وجود دارد. همچنین، Schnell و همکاران (۲۲) با مطالعه ۵۹ رقم انبه از فلوریدا با ۱۵ نشانگر ریزماهواره، شمیلی و همکاران (۲۳) با بررسی ارتباط ژنتیکی و تنوع موجود در بین ۴۱ ژنوتیپ انبه موجود در ایران با استفاده از ۱۶ نشانگر SSR، Ahmedand و Mohamed (۱) با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۱ نژادگان انبه از کشور سودان با ارزیابی توسط نشانگرهای تصادفی RAPD، Ravishankar و همکاران (۲۰) با بررسی تنوع و روابط ژنتیکی ۲۶۹ رقم انبه هند، توسط نشانگرهای (Sequence Tagged Microsatellite Site) STMS، Luo و همکاران (۱۲) با مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۳ رقم انبه از کشور چین با نشانگرهای SCoT و ISSR، Rajwana و همکاران (۱۸) با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۵ رقم و نژادگان انبه پاکستان به وسیله نشانگرهای RAPD، Samal و همکاران (۲۱) با بررسی ساختار ژنتیکی تنوع در ۶۵ نمونه انبه از کشور هند شامل ۲۰ واریته تجاری، ۱۸ دورگه و ۲۵ نژادگان محلی و ۲ نژادگان غیرمحلی به وسیله نشانگرهای RAPD و ISSR، Paing Htway و همکاران (۱۶) با مطالعه تنوع ژنتیکی ۶۰ نژادگان انبه از ۳ منطقه مختلف کشور میانمار با ۹ نشانگر SSR، Pandit و همکاران (۱۷) با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۷۰ رقم انبه به وسیله ۳۳ نشانگر ISSR و مقدس زاده (۱۴) با مطالعه تنوع ژنتیکی در بین ۳۰ نژادگان انبه جنوب ایران با استفاده از ۱۵ نشانگر مولکولی مبتنی بر عناصر ترانسپوزونیIRAP نشان دادند که در سطح DNA نیز گیاه انبه از تنوع ویژه درون گونه‌ای برخوردار است.

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که از ۳۰ نمونه انبه مورد آزمایش،۱۰ نژادگان برای ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* از توالی یکسانی برخوردار بودند. این در حالی است که در پژوهش مقدس‌زاده (۱۴) که با استفاده از نشانگر مولکولی IRAP روی همین ۳۰ نژادگان مورد مطالعه انجام شده بود، نتیجه‌های تجزیه خوشه‌ای نشان داد که تمامی نژادگان‌ها در ۴ گروه اصلی قرار گرفتند و ۱۰ نژادگان مشابه در این مطالعه براساس نتیجه‌های آن‌ها در دو گروه متفاوت قرار داشتند. براساس نتیجه‌های هاشمی‌سیستانی (۶)، ۳۰ نژادگان انبه مورد بررسی براساس ناحیه *rbcl* در دو گروه اصلی قرار داشتند و براساس آن، نژادگان‌های اربابی، پودنه ای، زاپاک، خیار۲ در یگ گروه یکسان قرار گرفته بودند که با نتیجه‌های مطالعه حاضر همخوانی دارد.

براساس نتیجه‌های حاصل، ضرایب فواصل ژنتیکی بین نژادگان‌های مورد بررسی بسیار اندک بود و بر همین اساس نژادگان چارک از منطقه رودان از بیشترین فاصله ژنتیکی با بقیه نژادگان‌ها برخوردار بود. پس از این نژادگان، به ترتیب نمونه‌های زرک از منطقه فاریاب و حاجی غلام از منطقه دهکهان نیز از فاصله ژنتیکی قابل توجهی با بقیه نژادگان‌ها برخوردار بودند. براساس نتیجه‌های مقدس‌زاده (۱۴) فاصله ژنتیکی زیاد و بیشترین فاصله ژنتیکی مربوط به نژادگان‌های آل‌مهتری و نارگیل، انبه گل و دوقلو، انبه گل و میخکی ۲، خاروست و چارک، انبه گل و چارک، مجلسی ۱ و خاروست، مجلسی ۱ و زاپاک با ضریب تشابه ۰/۹۶۷، ۰/۹۲۰، ۰/۹۲۰، ۰/۹۳۹، ۰/۹۳۸، ۰/۹۳۰ و ۰/۹۴۷ بوده. همچنین، نتیجه‌های هاشمی‌سیستانی (۶) نشان داد که ضریب‌های فواصل ژنتیکی صفر تا ۰/۳۷۷ بود و بیشترین فاصله ژنتیکی مربوط به نژادگان خنیزی بوده است. براساس نتیجه‌های مطالعه حاضر، تجزیه خوشه‌ای توانست تا حد قابل قبولی نژادگان‌های انبه مورد بررسی را دسته‌بندی و تفکیک کند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

نتیجه گیری

پس از انجام آزمایش و تعیین توالی محصول‌های PCR، واکاوی توالی‌های به دست آمده براساس ناحیه بین ژنی *trnH-psbA* نشان داد که نژادگان‌های نارگیل از جیرفت و چارک از رودان و همچنین چارک و بینام۲ از منطقه بلوک با ضریب ۰/۰۵۷۹ دارای بیشترین فاصله ژنتیکی از یکدیگر بودند. در مجموع، نژادگان چارک از منطقه رودان از بیشترین فاصله ژنتیکی با بقیه نژادگان‌ها برخوردار بود. مقایسه فواصل ژنتیکی نژادگان‌های انبه مورد آزمایش با مکان‌هایی که این نمونه‌ها جمع‌آوری شده بودند، نشان داد که ارتباط موثری میان مکان‌های جغرافیایی گیاهان انبه با فواصل ژنتیکی آن‌ها وجود نداشت که این احتمال وجود دارد که بسیاری از این نمونه‌ها پایه ژنتیکی بسیار نزدیکی داشته و در مکان‌های مختلف با نام‌های متفاوت گسترش یافته‌اند. با توجه به نتیجه‌های پژوهش حاضر، در برنامه‌های آتی اصلاح انبه بهتر است از نژادگان‌هایی که در فاصله ژنتیکی دورتری از یکدیگر قرار دارند به عنوان والدین مناسب جهت تلاقی استفاده شود. بنابراین جهت هر نوع تلاقی و اصلاح گیاه انبه بهتر است به نژادگان‌های منطقه جیرفت و رودان (به ویژه چارک) توجه بیشتری شود.

در مجموع و با مقایسه نتیجه‌های پژوهش حاضر با پژوهش‌های گذشته روی همین نژادگان‌های انبه، می‌توان نتیجه گرفت که اگرچه ارزیابی ناحیه بین‌ژنی *trnH-psbA* در زمینه پژوهش تنوع زیستی بین گونه‌ای بسیار کارآمد است، اما به ظاهر این روش نسبت به برخی دیگر از نشانگرهای استفاده شده IRAP (۱۴) و ناحیه بین ژنی *rbcl* (۶) روی همین نژادگان‌های مورد بررسی، برای بررسی تنوع درون گونه‌ای گیاه انبه نیز مناسب بوده و به احتمال برای مطالعه تنوع بین گونه‌ای و در شناخت روابط بین گونه‌ای انبه نیز می‌تواند مناسب باشد. وجود این امر با توجه به کوتاه بودن ناحیه بین ژنی *trn*H-*psb*A (در حدود ۴۵۰ جفت بازی) تا اندازه زیادی قابل توجیه است. با این حال به نظر می‌رسد، برای دستیابی به اطلاعات جامع‌تر، نیاز به جمع‌بندی پژوهش‌های گذشته و همچنین انجام پژوهش‌های بیشتری است. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که تنوع این نژادگان‌ها به وسیله دیگر بارکدهای DNA نظیر *ITS* و *matk* و همچنین سایر نشانگرهای مولکولی مناسب بررسی شود تا بتواند با نتیجه‌های پژوهش حاضر مورد مقایسه قرار گیرد.

منابع References

1. Ahmedand, T.H.M and Z.M.A. Mohamed. 2015. Genetic Diversity of Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars in Shendi Area. Ext. J. Appl. Sci. 3: 219-224.
2. Chapolagh Paridari, A., Gh. Jalali, A. Sonboli and M. Zarafshar. 2012. Revision of Iranian Carpinus species using of molecular markers (nrDNA ITS and trnH-psbA). Iranian J. Ran. For. Plant Bre. Gen. Res. 20: 1-13.
3. Dellaporta, S.L., J. Wood, and J.B. Hicks. 1993. A plant DNA minipreparation: version II. Plant Mol. Biol. Rep. 1: 19-22.
4. Ghahramanzadeh, R. 2011. DNA barcoding of some invasive and native weed species using matK, rbcL and loci of trnH-psbA intergenic region. PhD Thesis. Mashhad Ferdowsi University. 257 p. (In Persian).
5. Ghahramanzadeh, R., S. H. Marashi, C. Van De Wiel, S. Malekzadeh, F. Shahriari and R. Smulders. 2012. Discrimination of the Invasive Plant Species, Myriophyllum spp., From Native Relatives Using DNA Barcoding. J. Plant. Protec. 26: 101-109. (In Persian).
6. Hashemi Sistani, M. 2018. Molecular study of some mango genotypes using rbcl gene sequencing. Master Thesis. Shirvan Higher Education Complex. 134 p. (In Persian).
7. Hemanth Kumar, N.V., P. Narayaswamy, D. Theertha Prasad, G.K. Mukunda and S.N. Sondur. 2001. Estimation of genetic diversity of commercial mango cultivars using RAPD markers. J. Hort. Sci. Technol. 76: 529-533.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

8. Hosseinzadeh Klagar, A., F. Akbarzadeh Roshan and H. Yousefzadeh. 2013. Determination of taxonomic status of chestnut in northern Iran using psbA molecular markers and *trnH-psbA* intergenic region. 8th Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran and 4th National Conference on Biosafety. (In Persian).
9. Human, C.F., J.F. Swanepoel and S. Rheeder. 2003. Evaluation of mango cultivars in South Africa. Acta Hort. 509: 161-170.
10. Kress, W.J., K.J. Wurdack, E.A. Zimmer, L.A. Weigt and D.H. Janzen. 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. Proc. Nat. Acad. Sci. 8369-8374.
11. Li, J., H. Bi, Z. Li and J. Feng. 2008. Genetic analysis of Ziziphus Jujube Huizao using ISSR markers. 1th International Jujube Symphosium, China, 82 p.
12. Luo, C., X.H. He, H. Chen, S.J. Ou, M.P. Gao, J.S. Brown, C.T. Tondo and R.J. Schnell. 2011. Genetic diversity of mango cultivars estimated using SCoT and ISSR markers. Biochem. Syts. Ecol. 39: 676-684.
13. Majumder, D.A.N., L. Hassan, M.A. Rahim and M.A. Kabir. 2012. Analysis of genetic diversity in mango (*Mangifera indica* L.) using isozymetic polymorphism. AFR. J. Biotechnol. 11: 15310-15323.
14. Moghadaszadeh, M. 2017. Study of genetic diversity of mango cultivars in southern Iran. Using transposon elements. Master Thesis. Faculty of Agriculture, Zabol University. 156 p. (In Persian).
15. Omranipour, S., L. Fahmideh and B. Fakhari. 2018. Investigation of Yield Variation and Morphological Traits of Mango Genotypes in Southern Parts of Iran. Iran. J. Hort. Sci. Technol. 19 (2): 249-266. (In Persian).
16. Paing Htway, H.T., A. N. Yee Soe, M.M. Myint, K.P. Yi and N.N. Nyein Chan. 2018. Genetic Diversity and Genetic Uniqueness of Indigenous Myanmar Mango (Sein Ta Lone) Cultivar in Kyaukse District. Int. J. Plant Biol. Res. 6: 1089.
17. Pandit, S.S., S. Mitra, A.P. Giri, K.H. Pujari, B.P. Patil, N.D. Jambhale and V.S. Gupta. 2007. Genetic diversity analysis of mango cultivars using inter simple sequence repeat markers. Curr. Sci. 93: 1135-1141.
18. Rajwana, I.A., N. Tabbasam, A.U. Malik, S.A. Malik and Y. Zafar. 2008. Assessment of genetic diversity among mango (*Mangifera indica* L.) genotypes using RAPD markers. Sci. Hort. 117: 297-301.
19. Rastgo, S. 2001. Investigation of genetic diversity of mango seedlings in Hormozgan province using some morphological and physicochemical traits and introduction of superior genotypes. Master Thesis, University of Tehran. 130 p. (In Persian).
20. Ravishankar, K.V., M.R. Dinesh, B.H. Mani, B. Padmakar and C.Vasugi. 2013. Assessment of genetic diversity of Mango (*Mangifera indica* L.) cultivars from Indian Peninsula using sequence tagged microsatellite (STMS) markers. Acta Hort. 992: 269-276
21. Samal, K., R.C. Jena, S.S. Swain, B.K. Das and P.K. Chand. 2012. Evaluation of genetic diversity among commercial cultivars, hybrids and local mango (*Mangifera indica* L.) genotypes of India using cumulative RAPD and ISSR markers. Euphytica, 185: 195-213.
22. Schnell, R.J., C.T. Olano, W.E. Quintanilla and A.W. Meerow. 2005. Isolation and characterization of 15 microsatellite loci from mango (*Mangifera indica* L.) and cross-species amplification in closely related taxa. Mol. Ecol. Notes. 5: 625-627.
23. Shamili, M., M.R. Fattahi Moghaddam and A. Talaei. 2009. Molecular evaluation of some Iranian mango genotypes using microsatellite markers. Modern Gen. J. 4: 36-27. (In Persian).
24. Tamura, K., M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Mol. Biol. Evol. 10(3): 512-526.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

25. Usman, M., B. Fatima and M.J. Jaskani. 2001. Breeding in Mango. Int. J. Agr. Biol. 4: 522-526.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 22 (4): 449-464 (2021)
Research article

Molecular Analysis of Some Mango Genotypes in Southern Iran Based on *trnhH-psbA* Intergenic Region

A. Shirzaie, M. Solouki and L. Fahmideh*[1]

Mango is one of the most important fruits in Asia and the tropical and subtropical regions of the world. In this study, the intraspecific genetic variation of 30 mango genotypes (*Mangifera indica* L.) from some regions (Roudan, Manoojan, Faryab, Jiroft, Anbarabad, Hishin, Dehkahan and Boluk) in two southern provinces of Kerman and Hormozgan was investigated by evaluating the trnH-psbA intergenic region. After sampling the young leaves, DNA extraction was done by using dellaporta method and PCR was conducted using *trnH-psbA (IGS)* primers. Proliferated products of each genotype were recorded in the NCBI database after sequencing**.** Analysis and drawing phylogenic relationships dendrogram and sequence similarity matrix was done by using Darwin, Popgene and Mega softwares to determine genetic relationships and genetic distances between genotypes. Sequence analysis showed that in the *trnH-psbA* intergenic region, 361 positions were identified. Studying the sequence homology of all mango samples represented a common sequence of 116 base pairs among them. Based on the dendrogram resulted from cluster analysis, all genotypes classified in 4 groups. Based on the results, it can be concluded that the use of the *trnH-psbA* intergenic region was useful for studying and identifying the diversity and interrelationships of mango genotypes.

Keywords: Mango, Intraspecific genetic variation, DNA barcoding, Phylogenetic relationships, Chloroplast markers.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-05-19]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1400.22.4.1.8]

1. M.Sc. Student, Professor of Department of Plant Breeding and Biotechnology, Zabol and Associate Professor of Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, respectively.
* Corresponding Author, Email: (l.fahmideh@gau.ac.ir).