مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیستم، شماره اول، ۱۳۹۲
http://jopp.gau.ac.ir

ارزیابی تنوع ژنتیکی پسته‌های منطقه خراسان با استفاده از صفات مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی RAPD

*سمیه طایفه علی اکبرخانی[۱]، علیرضا طلایی[۲] و محمدرضا فتاحی مقدم[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه تهران، [۲]استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه تهران،
[۳]دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۵

چکیده

پسته به‌دلیل خصوصیت دوپایگی و هتروزیگوسی بالا، دارای تنوع ژنتیکی نسبتا زیادی می‌باشد. در این پژوهش ۴۰ ژنوتیپ نر و ماده در منطقه فیض‌آباد خراسان با استفاده از صفات مورفولوژی، فنولوژی و همچنین نشانگر مولکولی رپید مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که برخی صفات چون تاج پوش درخت، رشد سالیانه، تراکم جوانه مرکب و همچنین زمان ایجاد گل آذین و برگ با داشتن ضریب تغییرات بالا، بیشترین تنوع را نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای داده‌های مورفولوژیکی، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم کرد. در بین ژنوتیپ‌های ماده، تعدادی از ژنوتیپ‌ها چون ('بادامی سفید۱'، 'سفید صابونی ۲'، 'گرمه سیاه' و 'قرمز درشت زود رس') براساس صفاتی چون خندانی، اندازه و میزان درصد پروتیین و چربی مغز برتری نسبی نشان دادند. در آزمایش رپید تعداد ۱۵ آغازگر مورد استفاده، ۱۲۳ باند تولید کردند که در مجموع ۱۱۵ باند در بین حداقل دو ژنوتیپ چند شکلی نشان دادند. اندازه باندهای تولید شده در تمام آغازگرها در محدوده ۳۰۰۰-۲۰۰ جفت باز تخمین زده شد. بیشترین تعداد باندهای تولیدی ۱۲ عدد و به‌وسیله آغازگر BC18 به‌دست آمد. متوسط درصد چند شکلی در بین تمام آغازگرهای مورد استفاده ۹۲/۸۳ درصد بود. مجموع قدرت تفکیک (Rp)

* مسئول مکاتبه: somaye.tayefeh@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

آغازگرها ۷۴/۵۴ بود و هر کدام به‌طور میانگین قدرت تفکیک ۴/۹۷ نشان دادند. بیشترین میزان قدرت تفکیک مربوط به پرایمر BC12 برابر ۷/۸۹ بود. نتایج به‌دست آمده از ماتریس تشابه بیشترین شباهت (۷۰ درصد) را بین 'بادامی سفید ۳' و 'ژنوتیپ ۷' نشان داد. کمترین شباهت (۱۸ درصد) در بین ژنوتیپ ماده 'گرمه سیاه' و ژنوتیپ ماده 'سفید صابونی ۱' بود. تجزیه کلاستر بر اساس ضریب تشابه دایس و روش یو.پی.جی.ام.آ در حد تشابه ۰/۴۱ ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در هشت گروه قرار داد که 'ژنوتیپ صابونی سفید ۱' و 'ژنوتیپ ۴' از دیگر ژنوتیپ‌ها به‌طور جداگانه‌ای تفکیک شدند. نتایج به‌دست آمده تنوع ژنتیکی بالایی را در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: پسته، تجزیه خوشه‌ای، صفات مورفولوژیک، ضریب تشابه، مارکرهای مولکولی

مقدمه

پسته اهلی (*Pistacia vera*) از تیره سماق (Anacardiaceae)؛ گیاهی دو پایه، خزان‌کننده و مقاوم به خشکی است. این گیاه از دیرباز در نقاط مختلف ایران مورد کشت و پرورش قرار می‌گرفته است. جنگل‌های وحشی و خودروی آن در شمال شرقی ایران و نواحی هم مرز با ترکمنستان و افغانستان پیشینه‌ای باستانی دارد. مطابق مستندات تاریخی و موجود چنین محدوده‌ای در قلمرو فرهنگی ایران و در سرزمینی به نام خراسان قرار دارد (ابریشمی، ۱۹۹۴).

اولین مطالعه مورفولوژیکی انجام شده روی جنس پسته توسط انگلر انجام شد که هشت گونه و تعداد کمی واریته برای این جنس شناسایی گردید (انگلر، ۱۸۸۳).

آمار متناقضی در مورد تعداد ارقام پسته موجود در ایران وجود دارد. طبق آمار منتشر شده توسط موسسه تحقیقات پسته، تعداد ارقام موجود در ایران بیش از ۷۰ رقم می‌باشد. اگر چه بعضی از پژوهش‌گران عقیده دارند که برخی ارقام از لحاظ ژنتیکی یکسان می‌باشند و تعداد ارقام موجود در ایران کمتر از میزان اعلام شده است. گزارشات پراکنده‌ای در ارتباط با بررسی ارقام پسته موجود در ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی وجود دارد ولی هیچ کدام از آن‌ها جامع نبوده و تمام ارقام را در بر نمی‌گیرد. دستیابی به منابع ژنتیکی پسته، تعیین و شناسایی خصوصیات رویشی و زایشی ارقام و فنوتیپ‌های این گیاه، از جمله مهم‌ترین اقدامات اصلاح پسته است (وزوایی و همکاران، ۲۰۰۳).

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه فیلوژنتیکی گونه‌های وحشی پسته و برخی از رقم‌های باغی با استفاده از نشانگر رپید توسط میرزایی و همکاران (۲۰۰۳) بر روی گونه‌های وحشی پسته و برخی از ارقام باغی کلکسیون پسته مؤسسه تحقیقات پسته کشور انجام گرفت. در این پژوهش ارتباط میان گونه‌های وحشی پسته و پسته اهلی سرخس، پسته آتلانتیکا زیر گونه موتیکا (بنه) *P. atlantica* subs, *P. mutica* و *P. khinjuk* و شش رقم از پسته اهلی به‌وسیله نشانگر رپید تجزیه شده‌اند. از بین ۷۷ پرایمر استفاده شده، ۱۵ پرایمر چند شکلی را بین ژنوتیپ‌ها نشان داد. نتایج تجزیه کلاستر بر اساس ضریب تشابه جاکارد و الگاریتم یو.پی.جی.ام.وی، ژنوتیپ‌های پسته را در چهار گروه قرار داد. نتایج این پژوهش، فرضیه ارقام رایج باغی را که در اثر اهلی شدن گونه سرخس به‌دست آمده‌اند را قوت بخشید. در کل نتایج حاصل شده، نشان داده شد که واریته سرخس بیشترین ارتباط را با ارقام پسته و با *P. khinjuk* و *P. atlantica* subs ,*P. Mutica* کمترین ارتباط را داشت.

مارتینز و هررو (۱۹۹۴) زمان گلدهی و کمیت و کیفیت دانه گرده را در ۱۷ رقم نر مورد بررسی و ارزیابی قرار داده و دریافتند که دوره گلدهی ارقام نر یک ماه طول کشیده و گلدهی بیشتر ارقام ماده را پوشش می‌دهد، و نیز دو صفت خیلی مهم ارقام نر زمان گلدهی و مقدار گرده تولیدی آن‌ها می‌باشد که در طی سال‌ها ثابت باقی مانده و از طریق این دو صفت می‌توان رقم گرده‌زای مناسب را انتخاب نمود.

بررسی تنوع ژنتیکی در ۳۰ ژنوتیپ نر پسته موجود در کلکسیون مؤسسه تحقیقات پسته کشور بر اساس صفات مورفولوژیکی نظیر طول، عرض، وزن تر جوانه گل، شروع و پایان گلدهی و تعدادی دیگر از صفات انجام گرفته است. از نمودار درختی آن ۱۱ گروه حاصل شد. تجزیه واریانس گروه‌ها بر اساس صفات مورد ارزیابی مشخص نمود که اختلافات معنی‌داری درسطح پنج درصد ار نظر عرض جوانه گل و قطر دمبرگ بین گروه‌ها وجود دارد (علی پور، ۱۹۹۷).

تاج آبادی پور (۱۹۹۷) در مدت سه سال، بررسی ۱۱۴ صفت کمی و کیفی بر روی ۲۰ رقم پسته باغی موجود در کلکسیون پسته کشور را انجام داد. نتایج تجزیه کلاستر از روی ۲۲ صفت مهم از صفات اندازه‌گیری شده، نشان داد که رقم‌های رضایی زود رس و فندقی زود رس خیلی به هم شبیه بوده و در یک دسته قرار دارند. رقم‌های راور شماره یک و فندقی غفوری شباهت زیاد با هم داشته و نیز با رقم اوحدی تا حدودی شبیه بودند. رقم‌های بادامی نیش کلاغی و سیف الدینی نیز در یک دسته

Archive of SID

www.SID.ir

قرار داشتند. ارقام کله قوچی و هراتی از دیگر ارقام متمایز بودند. رقم پوست پیازی به‌خاطر عدم تولید میوه مغز دار کاملا از دیگر ارقام متمایز بود.

کفکاس و همکاران (۲۰۰۹) با استفاده از نشانگرهای RAPD، ISSR، AFLP تعداد ۶۹ رقم و ژنوتیپ پسته مورد کشت در آمریکا، ترکیه، سوریه، یونان، ایتالیا، ایران، تونس و اسرائیل را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی به دو گروه ایرانی و سایر کشورها تقسیم می‌شود و رقم سیرت با منشأ ترکیه بین این دو دسته واقع می‌شود. ایشان گزارش دادند که منشا پسته از ناحیه ایران خزر می‌باشد که از طریق جنوب شرقی ترکیه وارد سوریه و نواحی مدیترانه، اروپا و شمال آفریقا شده است.

احمد و همکاران (۲۰۰۳) با طراحی ۱۴ جفت آغازگر SSR و کاربرد آن‌ها جهت بررسی تعدادی از ارقام تجاری پسته ایران، ترکیه، آمریکا و سوریه گزارش کردند که ارقام تجاری ایران در یک گروه واقع می‌شوند در صورتی‌که ارقام تجاری سوریه نمی‌توانند در یک گروه مجزا واقع شود و تنوع بیشتری نشان دادند.

با توجه به مطالعات فراوان مورفولوژیکی و مولکولی انجام شده بر روی ارقام پسته می‌توان به اهمیت و جایگاه این محصول در ایران پی برد. همچنین محدود شدن ارقام پسته مورد کشت و کاهش تنوع ژنتیکی مطلوب نبوده و موجب آسیب‌پذیری و ناپایداری تولید می‌گردد. بسیاری از ارقام و فنوتیپ های بومی حامل ژن‌های ارزشمندی چون مقاومت به بیماری‌ها، آفات و تحمل به تنش‌های خشکی، سرما و شوری می‌باشند، که می‌توان از این منابع ژنی جهت اصلاح و معرفی ارقام زراعی برتر در آینده بهره برد. راه رسیدن به چنین هدفی شناسایی و جمع‌آوری ارقام و فنوتیپ‌های بومی نر و ماده پسته کشور و استقرار آن‌ها در کلکسیون‌های ملی و منطقه‌ای و متعاقب آن بررسی و ثبت مشخصات مورفولوژیکی و فنولوژیکی ارقام و فنوتیپ‌های نر و ماده پسته است. از این رو در این پژوهش به بررسی تنوع برخی از ژنوتیپ‌های نر و ماده پسته در منطقه فیض‌آباد خراسان با استفاده از مورفولوژی و نشانگر مولکولی RAPD پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این پژوهش ۲۵ ژنوتیپ ماده و ۱۵ ژنوتیپ نر پسته در منطقه خراسان مورد بررسی قرار گرفت. خراسان در شمال شرق ایران قرار دارد. ژنوتیپ‌های موردنظر ۳۰ ساله و بذری بودند (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌ها و ارقام مورد استفاده.

ردیف	ژنوتیپ‌های ماده	ردیف	ژنوتیپ‌های ماده	ردیف	ژنوتیپ‌های نر
۱	بادامی سفید ۱	۱۶	ژنوتیپ ۱۶	۱	ژنوتیپ ۱
۲	بادامی سفید ۲	۱۷	ژنوتیپ ۱۷	۲	ژنوتیپ ۲
۳	بادامی سفید ۳	۱۸	ژنوتیپ ۱۸	۳	ژنوتیپ ۳
۴	سفید صابونی ۱	۱۹	ژنوتیپ ۱۹	۴	ژنوتیپ ۴
۵	سفید صابونی ۲	۲۰	ژنوتیپ ۲۰	۵	ژنوتیپ ۵
۶	بادامی قرمز	۲۱	ژنوتیپ ۲۱	۶	ژنوتیپ ۶
۷	قرمز زودرس درشت	۲۲	ژنوتیپ ۲۲	۷	ژنوتیپ ۷
۸	گرمه ریز ۱	۲۳	ژنوتیپ ۲۳	۸	ژنوتیپ ۸
۹	گرمه ریز ۲	۲۴	زنوتیپ ۲۴	۹	ژنوتیپ ۹
۱۰	گرمه سیاه	۲۵	ژنوتیپ ۲۵	۱۰	ژنوتیپ ۱۰
۱۱	گرمه زودرس			۱۱	ژنوتیپ ۱۱
۱۲	اکبری			۱۲	ژنوتیپ ۱۲
۱۳	اوحدی			۱۳	ژنوتیپ ۱۳
۱۴	ممتاز			۱۴	ژنوتیپ ۱۴
۱۵	کله قوچی			۱۵	ژنوتیپ ۱۵

ارزیابی مورفولوژیکی: برداشت برگ، گل و میوه به‌صورت تصادفی از قسمت‌های مختلف درخت در ۳ تکرار انجام گرفت.

خصوصیات مورفولوژی نمونه‌ها براساس توصیف‌نامه (دیسکریپتور[1]) پسته انجام گرفته و در هر صفت یادداشت برداری‌های لازم براساس فرم مربوطه انجام گرفت. در این پژوهش ۵۵ صفت گیاه شناسی و مورفولوژی گل، برگ و میوه برای ۲۵ ژنوتیپ ماده پسته اندازه‌گیری شد و ۲۵ صفت مورفولوژی برگ و گل و صفات مربوط به درخت برای ۱۵ ژنوتیپ نر بررسی و هر کدام از این صفات به‌طور دقیق مطالعه و رکوردهای اندازه‌گیری شده آن صفت یادداشت گردید. در جدول ۲ و ۳ صفات اندازه‌گیری شده و روش اندازه‌گیری آن‌ها بیان شده است.

1- IPGRI, 1997

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی مولکولی (استخراج DNA): استخراج DNA از نمونه‌های برگی و با استفاده از روش موری و تامسون (۱۹۸۰) با اندکی تغییرات (اضافه کزدن استات پتاسیم در مرحله شستشو) صورت گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA به‌دست آمده با استفاده از روش الکتروفورز DNA روی ژل آگاروز با غلظت ۰/۸ درصد و نیز روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر[1] صورت گرفت. سپس غلظت یکسان از نمونه‌ها (۱۰ نانوگرم در میکرولیتر) تهیه شد.

آغازگرهای مورد استفاده: در این پژوهش از بین ۳۰ آغازگر ده نوکلئوتیدی سری TibMolBiol که روی دو ژنوتیپ با خصوصیات ظاهری متفاوت مورد آزمایش قرار گرفتند، تعداد ۱۵ آغازگر که توانستند باندهای چند شکلی و پایدار تولید کنند، برای تمامی ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۲- صفات کیفی اندازه‌گیری شده در پسته‌های نر و ماده در منطقه خراسان.

ردیف	صفت	واحد	نحوه اندازه گیری
۱	عادت رشد درخت	کد	۱- عمودی، ۲- نیمه عمودی، ۳- گسترده، ۴- افکنده
۲	ارتفاع درخت	کد	۲- کم، ۵- متوسط، ۷- بلند
۳	زاویه شاخه‌ها	کد	۳- پراکنده و تنک، ۵- متوسط، ۷- فشرده
۴	زمان ایجاد برگ	روز	تعداد روز از اول فروردین به بعد
۵	خزان و ریزش برگ	روز	تعداد روز از اول فروردین به بعد
۶	زمان ایجاد گل آذین	روز	تعداد روز از اول فروردین به بعد
۷	زمان تمام گل	روز	تعداد روز از اول فروردین به بعد
۸	زمان رسیدگی میوه	روز	تعداد روز از اول فروردین به بعد
۹	رنگ پوسته سبز	کد	۱- کرم روشن، ۱- سفید_ زرد، ۲- سفید_ نارنجی، ۳- ن ارنجی_ زرد، ۴- نارنجی_ قرمز، ۵- قرمز، ۶- قرمز_ ارغوانی
۱۰	رنگ تستا	کد	۱- مایل به خاکستری، ۲- مایل به قرمز، ۳- قرمز تیره، ۹۹- سایر رنگ‌ها
۱۱	رنگ مغز	کد	۱- زرد رنگ، ۲- زرد مایل به سبز، ۳- سبز، ۹۹- سایر رنگ‌ها

1- Perkin-Elmer-M EZ-201

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- صفات کمی اندازه‌گیری شده در پسته‌های نر و ماده در منطقه خراسان.

ردیف	صفت	واحد و روش اندازه‌گیری	ردیف	صفت	واحد و روش اندازه‌گیری
۱	تاج پوش درخت	متر	۱۸-	پوکی	درصد
۲	قطر درخت	متر	۱۹-	انس صد پسته	گرم-ترازو حساس
۳	رشد سالیانه درخت	سانتیمتر-کولیس	۲۰-	وزن صد پسته خشک	گرم- ترازو حساس
۴	تعداد جوانه	شاخه سال جاری	۲۱-	وزن صد مغز خشک	گرم- ترازو حساس
۵	تراکم جوانه	نسبت تعداد جوانه به طول شاخه سال جاری	۲۲-	نسبت وزن صد مغز به وزن صد پسته	گرم- ترازو حساس
۶	طول، عرض و ضخامت جوانه مرکب	سانتیمتر-کولیس	۲۳-	نسبت مغزبه پوست	گرم- ترازو حساس
۷	تعداد برگچه	-	۲۴-	طول مغز	سانتیمتر-کولیس
۸	طول و عرض برگ	سانتیمتر-کولیس	۲۵-	عرض مغز	سانتیمتر-کولیس
۹	طول دمبرگ	سانتیمتر-کولیس	۲۶-	ضخامت مغز	سانتیمتر- کولیس
۱۰	طول و عرض برگ انتهایی	سانتیمتر-کولیس	۲۷-	چربی	درصد- دستگاه سوکسله
۱۱	طول گل آذین	سانتیمتر-کولیس	۲۸-	پروتیین	درصد- دستگاه کجلدار
۱۲	تعداد خوشچه‌های گل	-	۲۹-	اندازه گیری ازت	درصد- دستگاه کجلدار
۱۳	درصد تشکیل میوه	-	۳۰-	اندازه گیری سدیم و پتاسیم	درصد-دستگاه فلیم فتومتر
۱۴	طول، عرض و ضخامت میوه	سانتیمتر-کولیس	۳۱-	اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم	درصد- تیتراسیون
۱۵	تعداد میوه در خوشه	-	۳۲-	اندازه‌گیری آهن، منگنز و روی	میلی گرم در لیتر- دستگاه جذب اتمی
۱۶	آلودگی مغز	درصد	۳۳-	فسفر	درصد-دستگاه اسپکتوفتومتر
۱۷	خندانی	درصد	۳۴-	جوانه زنی گرده	درصد- گشت در پتریدیش و شمارش

Archive of SID

www.SID.ir

تنظیم شرایط PCR: تمامی وسایل مورد استفاده برای PCR قبل از استفاده جهت استریل شدن اتوکلاو شدند. کیت PCR از شرکت سیناژن (ایران) تهیه شد که شامل dNTPs، بافر PCR، تک DNA پلیمراز و $MgCl_2$ بود. پس از آماده کردن محلول پایه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه PCR[1] انجام شد. برای انجام واکنش PCR سیکل‌های حرارتی به شرح جدول ۴ استفاده گردید.

الکتروفورز DNA محصول PCR: محصولات تکثیر توسط ژل آگاروز ۱/۲ درصد (TBE) تفکیک و توسط دستگاه ژل داک[2] مشاهده شده و عکس‌برداری از ژل صورت گرفت.

آنالیز داده‌های مورفولوژیکی با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت، برای بررسی ضریب همبستگی صفات کیفی از روش اسپیرمن و صفات کمی از روش پیرسون استفاده شد. تجزیه کلاستر داده‌ها با کمک روش وارد (WARD) انجام شد. در مورد داده‌های مربوط به RAPD نوارهای چند شکل ژنوتیپ‌ها به‌صورت صفر و یک نمره‌دهی شدند. نرم‌افزار[3] برای تخمین شباهت ژنتیکی بر اساس ضریب تشابه جاکارد استفاده شد. ماتریس تشابه ژنوتیپ‌ها با استفاده ضریب تشابه دایس و تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA به‌دست آمد.

برای هر آغازگر در این آزمایش قدرت تفکیک (Rp) محاسبه شد. این ضریب بیانگر میزان کارآیی هر نشانگر برای جداسازی و تفکیک نمونه‌های مورد مطالعه می‌باشد (پریووست و ویلکینسون، ۱۹۹۹). این شاخص بر اساس فرمول زیر محاسبه می‌شود (گیلبرت و همکاران، ۱۹۹۹):

$$Rp = \sum Ib \qquad (1)$$

$$Ib = 1 - (2 \times | 0.5 - p |)$$

که در آن Ib میزان آگاهی بخش بودن هر باند یک پرایمر می‌باشد. این مقدار طبق فرمول بالا برای هر کدام از باندهای تولید شده می‌تواند بین یک تا صفر متغیر می‌باشد. P: نسبتی از ژنوتیپ‌ها که دارای باند موردنظر می‌باشند.

1- i-Cycler
2- Gel docuent, UVP, USA
3- NTSYS-pc Ver 2.02

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- زمان و دمای لازم برای سه مرحله (واسرشت سازی، اتصال و بسط) در هر یک از دوره‌های حرارتی PCR.

سیکل	تعداد تکرار	مرحله انجام شده	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	زمان موردنیاز
۱	۱	واسرشت سازی	۹۴	۳ دقیقه
۲	۵	واسرشت سازی	۹۲	۱ دقیقه
		اتصال آغازگر به DNA	۳۹/۵	۱ دقیقه
		بسط آغازگر	۷۲	۲ دقیقه
۳	۳۷	واسرشت سازی	۹۲	۳۰ ثانیه
		اتصال آغازگر به DNA	۳۷/۵	۴۵ ثانیه
		بسط آغازگر	۷۲	۲ دقیقه
۴	۱	بسط نهایی	۷۲	۷ دقیقه
۵	۱	نگهداری	۴	+∞

نتایج و بحث

نتایج مورفولوژیکی مربوط به ژنوتیپ‌های ماده: حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات در جدول ۵ بیان شده است. در میان صفات مورد مطالعه، صفت‌هایی چون تاج پوش درخت، رشد سالیانه، درصد پوکی مغز، رنگ پوست و مغز پسته، میزان آهن و سدیم مغز، تراکم جوانه مرکب و همچنین زمان ایجاد گل آذین و برگ بیشترین ضریب تغییرات را داشتند. نتایج تفاوت معنی‌داری را در صفات مورد بررسی نشان داد.

خندان بودن یک رقم به‌خصوص بالا بودن درصد آن از صفات خوب و مورد توجه در استاندارد و تجارت پسته است. این صفت در بین ارقام مختلف متفاوت و از نظر پژوهش‌ها بسیار مهم است همچنین این صفت از نظر بازار پسندی نیز دارای اهمیت می‌باشد. میزان خندانی پسته در این ژنوتیپ‌ها در بازه ۹۴-۷۱ درصد می‌باشد و گزارش تاج‌آبادی‌پور (۱۹۹۷) درصد خندانی را ۸۹-۴۶ درصد در بین ارقام کلکسیون کشور معرفی کرد.

در بین ارقام ایرانی درصد پوکی از ۱۰ تا ۴۰ درصد گزارش شده است که میزان آن می‌تواند در اثر عوامل مختلفی از جمله عدم گرده افشانی، رشد ناقص جنین، کمبود مواد غذایی، پارتنوکارپی و عوامل فیزیولوژیکی و غیره متغیر باشد (میرزایی و همکاران، ۲۰۰۳).

Archive of SID

www.SID.ir

میزان پوکی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی کمتر از پنج درصد بود. نوبرانه بودن و زود رس بودن محصول (حدود ۲ ماه) از ویژگی‌های پسته این منطقه است که در این مطالعه نیز اثبات شد به‌طوری که ژنوتیپ‌های "گرمه" و "بادامی قرمز" از اواخر تیر و اوایل مرداد شروع به رسیدگی می‌کند. احتمالا با توجه به آب و هوای این منطقه که گرم و خشک با بارندگی کم و تابستان‌های داغ و زمستان‌های خشک و سرد است، می‌توان بیان کرد که نیاز سرمایی این پسته‌ها پایین و زودتر برطرف می‌شود. در پسته‌های زودرس گرمه بیشترین پوکی ۵ درصد و در پسته بادامی قرمز بیشترین پوکی ۲ درصد بود که با توجه به زودرس بودن این رقم بسیار مناسب است. درصد مغز به میوه خشک در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ۶۲/۵-۳۵/۹۵ بود که با گزارش اسماعیل پور (۲۰۰۳) که در بین ارقام پسته ایران، میزان ۵۸-۵۱/۷ درصد عنوان کردند، مطابقت داشت. خصوصیات وزن، اندازه و درصد پوست، شکل و خندانی پسته‌ها جهت شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌ها از یکدیگر مهم و تأثیرگذار است (وارگاس و همکاران، ۱۹۹۲).

نتایج مورفولوژیکی مربوط به ژنوتیپ‌های نر: در میان صفات مورد بررسی، صفاتی چون تاج پوش درخت، رشد سالیانه درخت، زمان گلدهی و زمان تمام گل با بالاترین ضریب تغییرات، بیشترین تنوع را داشتند. زمان ایجاد گل و طول مدت زمان گلدهی در بین ۱۵ ژنوتیپ مورد بررسی با هم متفاوت است که می‌توان از آن‌ها برای گرده افشانی ارقام ماده استفاده کرد. حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات صفات مورد بررسی در جدول ۶ بیان شده است.

طول دوران گلدهی در ژنوتیپ‌های نر مورد مطالعه ۱۵-۱۰ روز بود که با نتایج مارتینز و هررو (۱۹۹۴) با طول دوران گلدهی ۱۴ روز مطابقت داشت. اما در مطالعه هاسن (۱۹۸۶) که بر روی ارقام محلی سوریه انجام گرفت، طول دوره گل‌دهی یک هفته گزارش شد و در پژوهشی که در اسپانیا روی ارقام نر مختلف با منشاهای متفاوت انجام شد، طول دوره گلدهی یک ماه گزارش شد که به‌دلیل شرایط آب و هوایی متفاوت و تأثیر محیط بر طول گلدهی می‌باشد.

ژنوتیپ‌های ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴ دوران گلدهی طولانی‌تری با میزان ۱۵ روز را در ژنوتیپ‌های مورد بررسی داشتند. این تنوع می‌تواند اساس خوبی برای انتخاب ژنوتیپ گرده دهنده مناسب برای ارقام ماده باشد. درصد جوانه‌زنی گرده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۸۷-۴۴ درصد بود که از نظر درصد جوانه‌زنی اختلاف زیادی داشتند و بر خلاف نتایج به‌دست آمده توسط مارتینز و هررو (۱۹۹۴) بود که در پژوهش آن‌ها حداقل جوانه‌زنی ۷۸ درصد و حداکثر جوانه‌زنی ۹۳ درصد بود. البته دلیل جوانه‌زنی پایین ژنوتیپ‌ها را می‌توان به خطاهایی در جمع‌آوری و حمل گرده‌ها به آزمایشگاه و ماندن گرده‌ها در فریزر ارتباط داد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات صفات مورفولوژی در ۲۵ ژنوتیپ ماده مورد بررسی.

صفات	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	ضریب تغییرات (درصد)
عادت رشد درخت	۱/۳۳	۳/۶۷	۲/۷۲	۰/۵۸۲	۲۱/۴۲
تاج پوش درخت	۸/۵	۴۴/۹۷	۱۹/۴۷	۹/۵۷	۴۹/۱۹
ارتفاع درخت	۳	۷	۵/۵۶	۱/۳۹	۲۵/۱۲
محیط تنه درخت	۳۷/۶۷	۹۸/۳۳	۶۹/۲۹	۱۷/۹۲	۲۵/۸۷
زاویه شاخه‌ها	۳	۶/۳۳	۳/۸۸	۱/۰۷	۲۷/۷۰
رشد سالیانه درخت	۴	۱۲/۶۷	۱۰/۹۷	۵/۳۳	۴۸/۶۱
تعداد جوانه	۳	۹/۳۳	۶/۰۵	۱/۴۸	۲۴/۵۰
تراکم جوانه	۰/۷۷	۳/۹۲	۱/۸۳	۰/۷۲۱	۳۹/۴۲
طول جوانه مرکب	۰/۵	۰/۹۳	۰/۶۹۲	۰/۱۰۸	۱۵/۷۵
عرض جوانه	۰/۳۳	۰/۸	۰/۵۱۶	۰/۱۲۲	۲۳/۷۶
ضخامت جوانه	۰/۲۷	۰/۶۳	۰/۳۵۶	۰/۰۸۵	۲۴/۰۲
زمان ایجاد برگ	۵/۳۳	۱۷	۱۰/۴۸	۳/۱۵	۳۰/۰۹
تعداد برگچه	۲/۶۷	۴/۶۷	۳/۲	۰/۴۰۸	۱۲/۷۵
طول برگ	۸/۱۷	۱۴/۵	۱۱/۶۵	۱/۶۱	۱۳/۸۸
عرض برگ	۱۲/۸۳	۱۸/۱۷	۱۵/۸۱	۱/۵۶	۹/۹۲
طول دمبرگ	۳/۳۳	۸/۶۷	۵/۳۲	۱/۲۴	۲۳/۴۸
طول برگ انتهایی	۷	۱۲/۶۷	۹/۷۸	۱/۲۵۰	۱۲/۷۷
عرض برگ انتهایی	۴	۸/۵	۶/۱۴	۰/۹۱۰	۱۴/۸۱
خزان برگ	۱۸۱/۶۷	۱۸۹/۶۷	۱۸۶	۲/۳۱	۱/۲۴
ریزش برگ	۲۴۰/۳۳	۲۴۹/۶۷	۲۴۳	۲/۲۱	۰/۹۱۱
زمان گلدهی	۳/۳۳	۱۴/۳۳	۸/۰۵	۳/۱۵	۳۹/۲۰
طول گل آذین	۴/۱۷	۱۲/۸۳	۷/۰۴	۱/۹۲	۲۷/۲۴
تعداد خوشچه های گل	۹	۱۶/۳۳	۱۲/۷۸	۱/۸۸	۱۴/۷۱
زمان تمام گل	۶/۶۷	۱۷/۶۷	۱۱/۳۶	۳/۰۳	۲۶/۶۵
زمان رسیدگی میوه	۱۴۳/۳۳	۱۵۴/۳۳	۱۴۸	۳/۱۵	۲/۱۳
تشکیل میوه	۷	۲۵/۳۳	۱۵/۸۱	۵/۱۷	۱۳/۷۲
طول میوه	۱/۱	۲/۴۳	۲/۰۸	۰/۳۰۰	۱۴/۳۹
عرض میوه	۱/۱	۱/۸۳	۱/۳۷	۰/۲۰۱	۱۴/۶۶
ضخامت میوه	۰/۶۳	۱/۵	۱/۰۲	۰/۲۲۶	۲۲/۰۴
رنگ پوسته سبز	۱	۵/۳۳	۳/۳۴	۱/۰۷	۳۲/۱۳

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۵- حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات صفات مورفولوژی در ۲۵ ژنوتیپ‌های ماده مورد بررسی.

صفت	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	ضریب تغییرات (٪)
تعداد میوه در خوشه	۱۱	۲۸	۱۹/۴۷	۵/۲۳	۲۶/۹
آلودگی مغز	۰	۴/۱۷	۱/۲۷	۱/۴۹	۱۷/۴۰
خندانی	۷۱	۹۳/۳۳	۸۵/۶۰	۶/۱۴	۷/۱۷
پوکی	۰	۵/۶۷	۲/۱۵	۱/۶۱	۷۴/۹۳
انس صد پسته	۲/۴۳	۴/۳۳	۳/۴۵	۰/۴۸۳	۱۳/۹۸
وزن صد پسته خشک	۷۲/۸	۱۲۲/۵۷	۹۸/۴۶	۱۲/۸۷	۱۳/۰۷
وزن صد مغز خشک	۳۷/۳۹	۶۷/۸۶	۵۰/۴۱	۷/۰۵	۱۳/۹۹
نسبت وزن صد مغز به وزن صد پسته	۳۵/۹۵	۶۲/۵	۵۰/۶۰	۵/۸۴	۱۱/۵۵
نسبت مغز به پوست	۰/۶۵	۱/۲۷	۱/۰۲	۰/۱۳۱	۱۲/۸۲
طول مغز	۱/۱۳	۱/۹۷	۱/۶۷	۰/۱۸۴	۱۰/۹۷
عرض مغز	۰/۶	۱/۲۳	۰/۸۳۹	۰/۱۳۸	۱۶/۵۰
ضخامت مغز	۰/۶۳	۱/۱	۰/۸۷۹	۰/۱۱۹	۱۳/۵۴
رنگ تستا	۱	۳	۲/۴۸	۰/۶۵۳	۲۶/۳۳
رنگ مغز	۱	۳	۲/۴	۰/۷۶	۳۱/۸۲
چربی	۴۵/۴۷	۵۷/۲۹	۵۱/۴۲	۲/۶۶	۵/۱۸
پروتیین	۱۶/۲۷	۳۲/۱	۲۱/۸۱	۳/۶۱	۱۶/۵۵
ازت	۲/۲	۴/۲۹	۳/۳۴	۰/۵۱۵	۱۵/۴۰
سدیم	۰/۰۵	۰/۱۸	۰/۰۹۱	۰/۰۲۸	۳۰/۶۱
پتاسیم	۰/۶۹	۱/۳۵	۰/۹۹۹	۰/۱۵۳	۱۵/۳۷
فسفر	۰/۴۳	۰/۷۳	۰/۵۶۶	۰/۰۷	۱۴/۱۰
منگنز	۰/۷۳	۱۷/۳۳	۱۲/۸۵	۳/۰۱	۲۳/۴۶
آهن	۱۷	۶۲/۴	۳۷/۸۴	۱۳/۳۲	۳۵/۱۹
روی	۶/۷۷	۳۰/۳	۲۳/۶۸	۴/۸۶	۲۰/۵۴
منیزیم	۰/۱۳	۰/۱۸	۰/۱۵۴	۰/۰۱۷	۱۱/۲۰
کلسیم	۰/۲۴	۰/۴۷	۰/۳۷۵	۰/۰۶۱	۱۶/۴۰

CV%: ضریب تنوع هر صفت برابر نسبت انحراف معیار به میانگین ضرب در عدد ۱۰۰ است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۶- حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات صفات مورفولوژی در ۱۵ ژنوتیپ نر در مورد بررسی.

صفت	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	ضریب تغییرات (٪)
عادت رشد درخت	۱	۳	۲/۰۴	۰/۶۴۰	۳۱/۳۴
تاج پوش درخت	۴/۶۳	۲۸/۶۳	۱۶/۰۹	۸/۳۱	۵۱/۶۷
ارتفاع درخت	۳/۶۷	۷	۵/۷۵	۱/۱۷	۲۰/۴۷
محیط تنه درخت	۲۷/۶۷	۹۶/۳۳	۶۳/۲۶	۲۴/۷۸	۳۹/۱۷
زاویه شاخه‌ها	۳	۷	۴/۵۱	۱/۵۴	۳۴/۱۸
رشد سالیانه درخت	۸/۱۷	۳۲/۳۳	۱۴/۰۹	۵/۹۶	۴۲/۳۳
تعداد جوانه	۵	۱۲/۳۳	۸/۷۵	۲/۲۳	۲۵/۵۱
تراکم جوانه	۱/۰۹	۳/۳۴	۱/۷۶	۰/۶۹۱	۳۹/۱۳
طول جوانه مرکب	۰/۷۳	۱/۱۳	۰/۹۱۵	۰/۰۹۴	۱۰/۲۹
عرض جوانه	۰/۵	۰/۷	۰/۶۱۵	۰/۰۵۶	۹/۱۳
ضخامت جوانه	۰/۳	۰/۶۳	۰/۴۶۲	۰/۰۸۶	۱۸/۶۲
زمان ایجاد برگ	۴/۳۳	۱۴/۳۳	۹/۵۹	۳/۲۵	۳۳/۹۵
تعداد برگچه	۲/۶۷	۴/۶۷	۳/۲۲	۰/۵۴۴	۱۶/۸۹
طول برگ	۱۰	۱۶/۱۷	۱۲/۰۶	۱/۵۷	۱۳/۰۱
عرض برگ	۱۰/۸۳	۱۹/۵	۱۵/۰۴	۲/۴۱	۱۶/۰۸
طول دمبرگ	۳/۳۳	۷/۸۳	۴/۶۷	۱/۱۶	۲۴/۹۵
طول برگ انتهایی	۶/۵	۱۳/۱۷	۹/۸۵	۱/۶۷	۱۷/۰۰
عرض برگ انتهایی	۴/۶۷	۸/۵	۶/۳۳	۱/۱۱	۱۷/۵۹
خزان برگ	۱۸۱/۳۳	۱۹۱/۳۳	۱۸۶	۳/۰۵	۱/۶۴
ریزش برگ	۲۴۱/۳۳	۲۵۰/۳۳	۲۴۶	۲/۹۶	۱/۲۰
زمان گلدهی	۲	۱۰/۶۷	۶/۴۸	۳/۱۶	۴۸/۷۳
طول گل آذین	۱/۶	۴/۶۳	۳/۳۱	۰/۸۴۷	۲۵/۵۴
تعداد خوشچه‌های گل	۱۱/۶۷	۲۰	۱۵/۴۶	۲/۱۱	۱۳/۶۹
زمان تمام گل	۴/۶۷	۱۴/۶۷	۹/۶۸	۳/۴۸	۳۵/۹۷
درصد جوانه‌زنی گرده	۴۴	۸۷	۶۱	۰/۱۴۸	۰/۲۴

Archive of SID

www.SID.ir

$$CV= (Std. Deviation/ Mean)\times 100 \quad (۲)$$

درخت مناسب گرده‌افشان کننده برای پسته از اهمیت بالایی برخوردار است و از ویژگی‌های مهم ژنوتیپ‌های نر هم‌زمانی گل‌دهی با ارقام ماده، مقدار دانه گرده تولیدی بالا، قدرت تلقیح‌کنندگی بالا و دیگر صفات مورفولوژیکی مناسب برای گرده افشانی می‌باشد که در نتیجه ژنوتیپ‌های نر مناسب برای هر رقم باید تعیین گردد و این هدف با مطالعه و شناخت ژنوتیپ‌های نر هر منطقه امکان‌پذیر می‌باشد (مارتینز و هرو، ۱۹۹۴).

نتایج آنالیز خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها: نتایج این آنالیز در شکل۱ نشان داده شده است که در آن ۴۰ ژنوتیپ نر و ماده مورد بررسی براساس عامل‌های اصلی به دو گروه بزرگ تقسیم شدند که در هر یک از این دو گروه هم ژنوتیپ‌های نر و هم ماده وجود داشت که این می‌تواند احتمالا نشان‌دهنده یکسان بودن منشا و یا والدین آن‌ها باشد (شکل۱).

با کم کردن فاصله ژنتیکی کل ژنوتیپ‌های مورد بررسی در چهار گروه قرار می‌گیرد. همچنین از مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۷)، می‌توان دریافت که گروه اول با برگ‌ها و گل آذین بزرگ بود و گروه دوم با ویژگی درختانی با ارتفاع کوتاه، تنه با قطر کم و تاج‌پوش کوچک‌تر نسبت به سایر گروه‌ها را در برگرفت.

گروه سوم با درختانی با ارتفاع بلند، تنه قطور و برگ‌های کوچک‌تر نسبت به سایر گروه‌ها بود و گروه چهارم در برگیرنده ژنوتیپ‌هایی با تاج پوش گسترده و طول دمبرگ بلند بودند. ژنوتیپ‌هایی که در یک گروه قرار گرفته‌اند از نظر صفات مورد بررسی مشابه بوده‌اند اما برای جداسازی دقیق این ژنوتیپ‌ها نیاز به استفاده مارکرهای دقیق‌تر و مارکرهای مولکولی است.

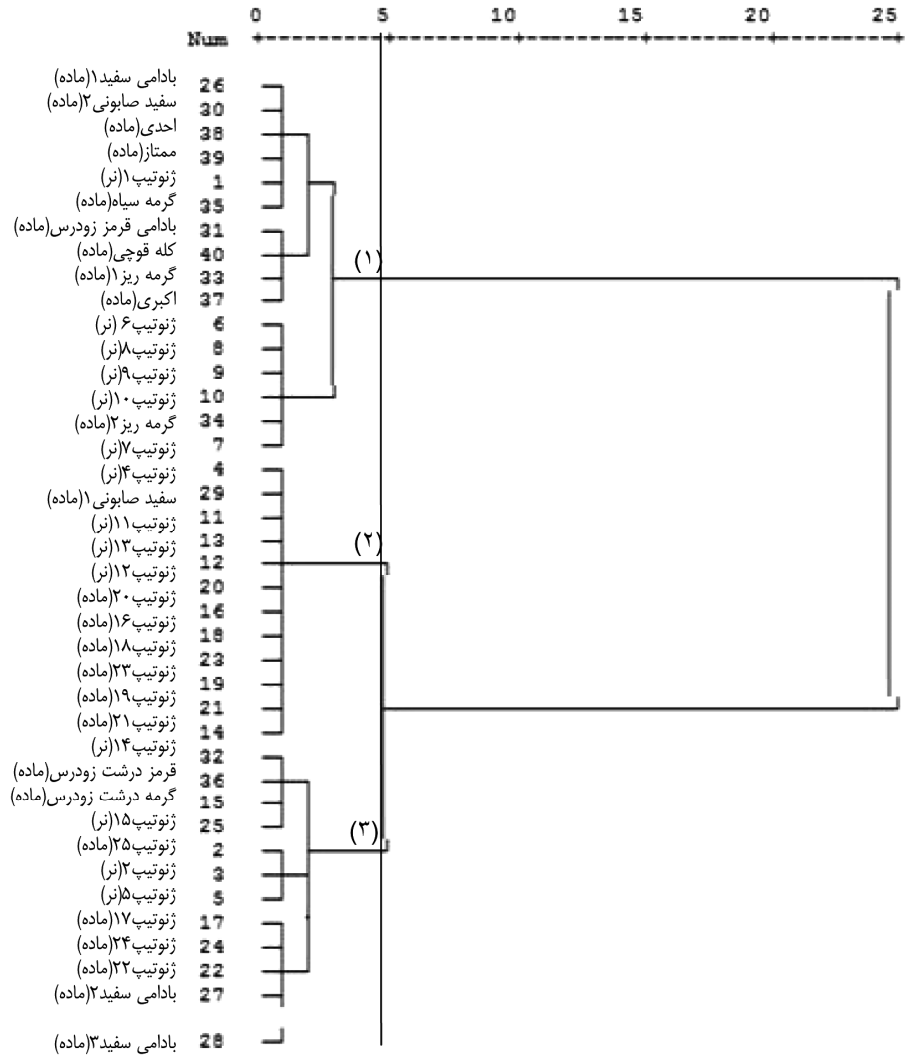
جدول ۷- مقایسه میانگین (آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد) کلاستر ژنوتیپ‌های نر و ماده مورد بررسی.

گروه	تاج پوش درخت	محیط تنه درخت	ارتفاع درخت	طول برگ	عرض برگ	طول دمبرگ	طول گل آذین
۱	۱۶/۹۸^{b}	۵۱/۷۰^{c}	۴/۷۳^{b}	۱۲/۵۵^{ab}	۱۶/۸۹^{a}	۵/۹^{a}	۷/۰۳^{a}
۲	۶/۷۷^{c}	۳۴/۷۲^{d}	۴/۶۶^{b}	۱۲/۸۳^{a}	۱۴/۷۵^{b}	۴/۷۴^{ab}	۳/۶۱^{b}
۳	۱۸/۶۱^{ab}	۹۰/۳۸^{a}	۶/۳۳^{a}	۱۱/۱۰^{b}	۱۵/۲۳^{ab}	۵/۰۵^{ab}	۵/۵۱^{ab}
۴	۲۴/۵۳^{a}	۷۲/۶۲^{b}	۶/۱۶^{a}	۱۱/۳۹^{ab}	۱۵/۰۶^{b}	۴/۵۸^{b}	۵/۶۵^{ab}

^{a,b,c}نشان‌دهنده تغییرات معنی‌دار میانگین‌ها می‌باشند (اعداد با علایم مختلف دارای اختلاف معنی‌دار هستند).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های نر و ماده پسته بر اساس صفات مورفولوژیکی وارد.

تجزیه مولکولی: ۱۵ آغازگر مورد استفاده در مجموع ۱۲۳ باند قوی تولید کردند که از بین آن‌ها ۸ باند در بین تمام ژنوتیپ‌ها یک شکل بودند و ۱۱۵باند در بین حداقل دو ژنوتیپ چند شکلی نشان دادند (شکل ۲). اندازه باندهای تولید شده در تمام آغازگرها در محدوده ۳۰۰۰-۲۰۰ جفت باز تخمین زده شد. بیشترین تعداد باندهای تولیدی ۱۲ عدد و به‌وسیله آغازگر BC18 و بیشترین درصد چند شکلی

www.SID.ir

مربوط به آغازگرهـای BE11، BD11، BCO8، BC12، OPC09، OPB17، OPE11، OPK10 و OPN13 با میزان ۱۰۰ درصد بود. متوسط درصد چند شکلی در بین تمام آغازگرهـای مـورد اسـتفاده ۹۲/۸۳ درصد بود. مجموع قدرت تفکیک (Rp) آغازگرها ۷۴/۵۴ بود و هر کدام به‌طور میانگین قدرت تفکیک ۴/۹۷ نشان دادند. در بین آغازگرهای مورد استفاده بیشترین مقدار قدرت تفکیـک مربـوط بـه آغازگر BC12 به‌میزان ۷/۸۹ بود (جدول ۸).

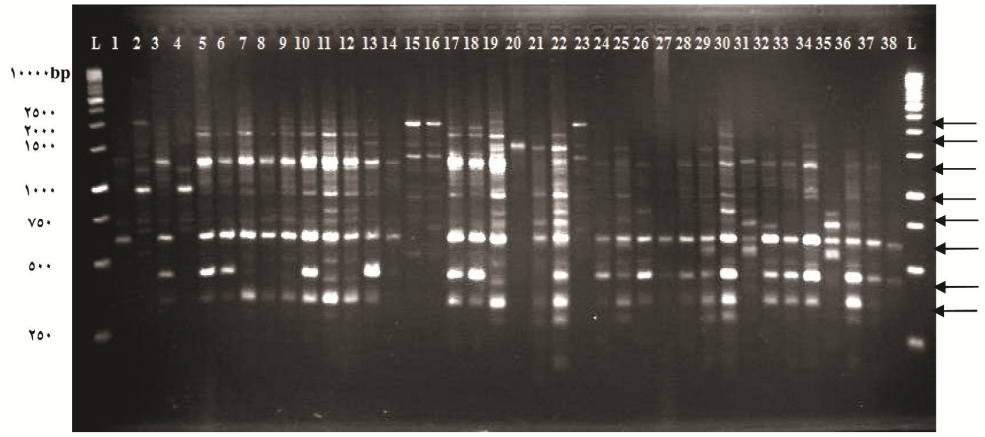
نتایج به‌دست آمده از ماتریس تشابه نشان داد که فاصله ژنتیکی میان ارقـام و ژنوتیـپ‌هـای مـورد بررسی در محدوده ۰/۳۱ تا ۰/۷۰ متغیر بود. در گزارش مشابهی روی ارقام پسته، این فاصله بین ۰/۴۰ تا ۰/۸۶ گزارش شده است (کریمی و همکاران، ۲۰۰۸).

جدول ۸- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده و نتایج آن‌ها.

ردیف	آغازگر	توالی ′۳→′۵	تعداد کل قطعات تکثیر شده	تعداد قطعات چند شکل	درصد چند شکلی	قدرت تفکیک(RP)
۱	BE11	GTCCTGCTGT	۷	۷	۱۰۰	۴/۵۷
۲	BD11	CAACCGAGTC	۹	۹	۱۰۰	۶/۳۶
۳	BC07	TGTGCCTGAC	۷	۶	۸۵/۷۱	۴/۱۰
۴	BCO8	GGTCTTCCCT	۵	۵	۱۰۰	۲/۹۴
۵	BC12	CCTCCACCAG	۱۰	۱۰	۱۰۰	۷/۸۹
۶	BC13	CCTGGCACAG	۱۱	۱۰	۹۰/۹	۶/۹۴
۷	BC17	CCGTTAGTCC	۶	۳	۵۰	۱/۳۶
۸	BC18	GTGAAGGAGG	۱۲	۱۱	۹۱/۶۶	۷/۳۶
۹	OPC07	GTCCCGACGA	۶	۵	۸۳/۳۳	۳/۲۱
۱۰	OPC09	CTCACCGTCC	۵	۵	۱۰۰	۳/۹۴
۱۱	OPB17	AGGGAACGAG	۹	۹	۱۰۰	۵/۵۲
۱۲	OPE11	GAGTCTCAGG	۷	۷	۱۰۰	۴/۴۷
۱۳	OPK10	GTGCAACGTG	۸	۸	۱۰۰	۴/۳۱
۱۴	OPN13	AGCGTCACTC	۱۰	۱۰	۱۰۰	۶/۸۴
۱۵	OPG11	TGCCCGTCGT	۱۱	۱۰	۹۰/۹	۴/۷۳
۱۶	مقدارکل	-	۱۲۳	۱۱۵	-	۷۴/۵۴
۱۷	میانگین	-	۸/۲	۷/۶۶	۹۲/۸۳	۴/۹۷

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- الگوی نوار DNA حاصل از تکثیر آغازگر OPG11 (شماره ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول ۱، L: سایز مارکر SMO313 و ۱۰kb).

نتایج به‌دست آمده از ماتریس تشابه بیشترین شباهت (۷۰ درصد) را بین بادامی سفید ۳ و ژنوتیپ ۷ نشان داد که با توجه به این‌که این ژنوتیپ‌ها از یک منطقه جمع‌آوری شده‌اند، احتمال این‌که این دو ژنوتیپ از یک والدین باشند، وجود دارد. شباهت (۶۹ درصد) بین ژنوتیپ‌های نر ۱۳ و ۱۴ وجود دارد که این نیز مورد توجه است (جدول ۹).

این ضریب در مطالعه دیگری بین ۰/۵۶ تا ۰/۷۹ گزارش شده است (تقی زاده و همکاران، ۲۰۱۰). محدوده فاصله ژنتیکی نشان دهنده تنوع بالای موجود در سطح ژنوم ارقام مورد مطالعه می‌باشد.

کمترین شباهت (۱۸ درصد) در بین ژنوتیپ ماده گرمه سیاه و ژنوتیپ ماده سفید صابونی ۱ بود که با توجه به صفات مورفولوژی بررسی شده که با هم متفاوت بودند، این تشابه مورد انتظار بود. ژنوتیپ ماده ۲۲ و سفید صابونی ۱ نیز شباهت کمی (۲۲ درصد) داشتند که آن‌ها را در گروه‌های جداگانه قرار می‌دهد.

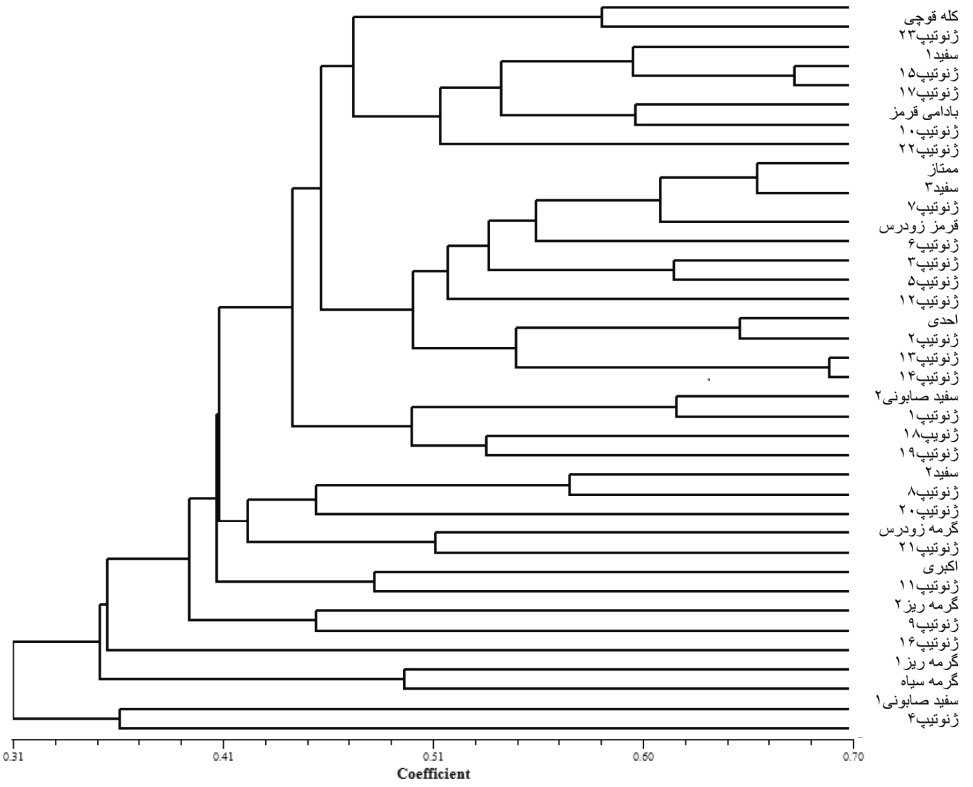
در محاسبه ضریب همبستگی که نشان‌دهنده همبستگی بین ماتریس تشابه و دندروگرام است، مقدار (r=۰/۷۲) به‌دست آمد که با توجه به‌وجود داده‌های گمشده این عدد نشان دهنده برازش مناسب ماتریس تشابه و دندروگرام است.

تجزیه کلاستر، در حد تشابه (۰/۴۱) ۳۸ ژنوتیپ مورد مطالعه را در هشت گروه قرار داد (شکل ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

در این پژوهش رقم‌های ممتاز، اوحدی و کله قوچی در گروه هشتم قرار گرفتند که این نتیجه با مطالعات انجام شده توسط میرزایی و همکاران (۲۰۰۳) و همچنین وزوایی و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت داشت. که در پژوهش‌ها نیز ارقام اوحدی، ممتاز و کله قوچی در فاصله ژنتیکی کمتری از یکدیگر جدا شدند. همچنین هم گروه شدن ژنوتیپ‌های مورد بررسی با این ارقام می‌تواند فرضیه مبدا بودن خراسان را بیشتر تثبیت کند.



شکل ۳- دندروگرام مربوط به گروه‌بندی ۳۸ ژنوتیپ پسته با استفاده از داده‌های RAPD، ماتریس تشابه دایس و روش UPGMA.

از اطلاعات به‌دست آمده می‌توان در انتخاب پایه و پیوندک‌های مناسب و اصلاح باغات موجود بهره گرفت. ضمن این‌که با توجه به شرایط آب و هوایی متنوع کشور، توجه به قرابت ژنوتیپ‌ها احتمالا می‌تواند ما را در انتخاب ژنوتیپ مناسب برای احداث باغ جدید در یک منطقه جغرافیایی خاص راهنمایی نماید. بدیهی است با انتخاب پرایمرهای بیشتر و انواع دیگر مارکرهای مولکولی،

www.SID.ir

می‌توان ژنوتیپ‌های این منطقه را به‌صورت ریزتر و دقیق‌تر تفکیک نمود و از اطلاعات به‌دست آمده در برنامه‌های اصلاحی بهره گرفت.

جدول ۹- ماتریس تشابه بین ۴۰ ژنوتیپ پسته بر اساس داده‌های حاصل از نشانگر رپید.

ژنوتیپ	کله قوچی	ممتاز	اکبری	احدی	سفید ۱	سفید ۲	سفید ۳	سفید صابونی ۱	سفید صابونی ۲	گرمه ریز ۱	گرمه ریز ۲
کله قوچی	۱										
ممتاز	۰/۵۱	۱									
اکبری	۰/۳۵	۰/۴۷	۱								
احدی	۰/۳۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۱							
سفید ۱	۰/۵۵	۰/۵۶	۰/۳۹	۰/۳۴	۱						
سفید ۲	۰/۳۱	۰/۴۶	۰/۵۳	۰/۴۸	۰/۴۲	۱					
سفید ۳	۰/۴۸	۰/۶۳	۰/۴۶	۰/۵۶	۰/۴۵	۰/۴۲	۱				
سفید صابونی ۱	۰/۲۷	۰/۲۶	۰/۳۷	۰/۴۳	۰/۲۶	۰/۴۲	۰/۳۰	۱			
سفید صابونی ۲	۰/۵۰	۰/۴۷	۰/۳۹	۰/۴۶	۰/۵۰	۰/۴۴	۰/۴۳	۰/۳۱	۱		
گرمه ریز ۱	۰/۲۸	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۴۱	۰/۲۷	۰/۵۳	۰/۳۶	۰/۲۵	۰/۳۴	۱	
گرمه ریز ۲	۰/۳۴	۰/۴۸	۰/۴۱	۰/۳۹	۰/۵۱	۰/۴۲	۰/۳۷	۰/۳۱	۰/۴۴	۰/۲۵	۱
گرمه سیاه	۰/۲۹	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۳	۰/۳۳	۰/۴۴	۰/۵۰	۰/۱۸	۰/۳۲	۰/۴۹	۰/۳۲
گرمه زودرس	۰/۴۰	۰/۴۵	۰/۴۲	۰/۵۱	۰/۳۸	۰/۴۳	۰/۵۲	۰/۳۰	۰/۳۸	۰/۳۶	۰/۳۲
بادامی قرمز	۰/۴۹	۰/۵۹	۰/۴۰	۰/۵۰	۰/۵۱	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۴۳	۰/۴۵	۰/۳۲	۰/۴۴
قرمز ز.درس	۰/۴۱	۰/۶۵	۰/۴۹	۰/۴۷	۰/۴۲	۰/۴۳	۰/۶۱	۰/۲۸	۰/۴۵	۰/۴۲	۰/۴۳
ژنوتیپ ۱	۰/۵۰	۰/۴۹	۰/۵۵	۰/۴۸	۰/۵۲	۰/۴۶	۰/۴۳	۰/۳۷	۰/۶۲	۰/۳۴	۰/۵۲
ژنوتیپ ۲	۰/۳۵	۰/۵۱	۰/۴۳	۰/۶۵	۰/۳۴	۰/۴۲	۰/۵۱	۰/۲۷	۰/۳۲	۰/۴۷	۰/۳۸
ژنوتیپ ۳	۰/۴۱	۰/۴۳	۰/۳۴	۰/۴۴	۰/۳۲	۰/۴۲	۰/۵۶	۰/۳۲	۰/۴۰	۰/۳۰	۰/۴۴
ژنوتیپ ٤	۰/۲۹	۰/۲۸	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۳۳	۰/۴۵	۰/۳۲	۰/۳۶	۰/۲۷	۰/۲۹	۰/۳۰
ژنوتیپ ۵	۰/۴۲	۰/۵۴	۰/۴۱	۰/۴۷	۰/۴۲	۰/۴۷	۰/۶۳	۰/۳۳	۰/۵۴	۰/۳۷	۰/۴۵
ژنوتیپ ٦	۰/۴۷	۰/۵۸	۰/۳۳	۰/۴۴	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۲۴	۰/۴۳	۰/۴۹	۰/۲۹
ژنوتیپ ۷	۰/۵۵	۰/۶۸	۰/۴۶	۰/۵۳	۰/۴۶	۰/۴۴	۰/۷۰	۰/۲۹	۰/۴۴	۰/۳۴	۰/۳۹
ژنوتیپ ۸	۰/۳۴	۰/۵۲	۰/۴۱	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۵۷	۰/۴۴	۰/۳۸	۰/۳۵	۰/۳۸	۰/۳۴
ژنوتیپ ۹	۰/۳۱	۰/۳۹	۰/۴۲	۰/۴۰	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۳۵	۰/۳۲	۰/۳۶	۰/۳۱	۰/۴۵
ژنوتیپ۱۰	۰/۳۸	۰/۴۸	۰/۳۶	۰/۵۲	۰/۴۹	۰/۳۵	۰/۳۹	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۲۳	۰/۴۲
ژنوتیپ ۱۱	۰/۴۷	۰/۴۲	۰/۴۸	۰/۳۵	۰/۴۳	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۳۱	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۳۷
ژنوتیپ ۱۲	۰/۵۲	۰/۵۴	۰/۴۴	۰/۴۸	۰/۴۰	۰/۴۶	۰/۵۳	۰/۳۴	۰/۵۴	۰/۴۲	۰/۳۹
ژنوتیپ ۱۳	۰/۴۱	۰/۶۱	۰/۴۹	۰/۶۱	۰/۴۴	۰/۶۰	۰/۶۱	۰/۴۲	۰/۵۴	۰/۴۲	۰/۴۷
ژنوبیپ ۱٤	۰/۳۵	۰/۵۱	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۳۴	۰/۴۶	۰/۴۹	۰/۴۳	۰/۴۶	۰/۳۱	۰/۴۴
ژنوتیپ ۱۵	۰/۵۲	۰/۵۷	۰/۳۹	۰/۴۷	۰/۶۰	۰/۴۰	۰/۵۶	۰/۳۲	۰/۴۲	۰/۳۲	۰/۴۵
ژنوتیپ ۱۶	۰/۳۴	۰/۳۸	۰/۳۳	۰/۲۷	۰/۳۹	۰/۴۰	۰/۳۸	۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۳۲
ژنوتیپ ۱۷	۰/۵۷	۰/۶۵	۰/۴۲	۰/۴۶	۰/۵۹	۰/۴۶	۰/۵۷	۰/۳۰	۰/۴۹	۰/۳۶	۰/۴۸
ژنوتیپ ۱۸	۰/۳۹	۰/۴۵	۰/۴۶	۰/۴۵	۰/۳۶	۰/۴۱	۰/۴۴	۰/۳۳	۰/۴۹	۰/۳۸	۰/۳۳
ژنوتیپ ۱۹	۰/۴۱	۰/۳۹	۰/۳۶	۰/۳۹	۰/۴۴	۰/۳۴	۰/۳۷	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۲۷	۰/۳۵
ژنوتیپ ۲۰	۰/۲۹	۰/۴۱	۰/۳۳	۰/۳۷	۰/۳۵	۰/۴۹	۰/۳۶	۰/۲۶	۰/۳۱	۰/۳۸	۰/۲۸
ژنوتیپ ۲۱	۰/۳۷	۰/۴۱	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۶	۰/۳۹	۰/۵۴	۰/۳۰	۰/۲۹	۰/۳۳	۰/۲۷
ژنوتیپ ۲۲	۰/۳۵	۰/۴۵	۰/۴۰	۰/۳۷	۰/۴۹	۰/۳۲	۰/۳۷	۰/۲۲	۰/۳۸	۰/۳۰	۰/۴۷
ژنوبیپ ۲۳	۰/۵۸	۰/۴۵	۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۴۹	۰/۳۲	۰/۵۳	۰/۳۸	۰/۴۵	۰/۲۴	۰/۳۴

www.SID.ir

با توجه به بومی بودن این ژنوتیپ‌ها و تکامل آن در طی سالیان متمادی در شرایط خاکی و اقلیمی کشور می‌تواند گزینه مناسبی در جهت اصلاح ارقام پسته موجود باشند. همچنین با توجه به‌نتایج به‌دست آمده و بالا بودن تنوع بین ژنوتیپ‌های موردمطالعه، حفظ و شناسایی این ذخایر ژنتیکی امری ضروری به‌نظر می‌رسد.

منابع

1.Abrishami, M.H. 1994. Persian Pistachio, Historical Approach. University Press enter, Tehran. Iran. (In Persian).

2.Ahmad, R., Ferguson, L., and Southwick S.M. 2003. Identification of pistachio (*Pistacia vera* L.) nuts with microsatellite markers. J Am Soc Hort Sci. 128: 898-903.

3.Alipour, H. 1997. Genetic diversity of soybean lines using seed protein electrophoresis. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Sanati Isfahan University, Pp:110. (In Persian)

4.Engler, A., 1883. Burseraceae et Anacardiaceae In: De Candolle A.C. (ed), Monographiae Phannerogamarum Vol.4. Paris. Pp.284-293.

5.Esmailpour, A., 2003. The Effect of *Pistacia mutica*, *P. vera*, and *P. vera* Var Sarakhs rootstocks on yield qualitative and quantitive characteristics of three commercial pistachio cultivars. Iran J. For. Poplar Res. 10: 333-345. (In Persian).

6.Gilbert, J.E., Lewis, R.V., Wilkinson, M.J., and Galigari, P.D.S. 1999. Developing and appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. Theo. App Gene. 98: 1125–1131.

7.Hassan, A.H., 1986. Pistachio pollination study and selection of suitable pollinators for Syrian varieties in Allepo. Plant studies division. The Arab center for the studies of Arid zones and Dry lands. Aleppo University, Syria, 53.

8.Kafkas, S., DoJan, Y., and ZaloJlu, S. 2009. Phylogenetic analysis in the genus *Pistacia* by simple sequence repeat markers. In: Proceedings of 5th International Symposium on Pistachios and Almonds. Sanliurfa, Turkey.84p.

9.Karimi, H.R., Zamani, Z., Ebadi, A., and Fatahi, M.R. 2008. Morphological diversity of Pistacia species in Iran. Gene Resou. Crop Evol. 56, 561–71. (In Persian).

10.Martinez, E., and Herreco, M. 1994. Male performance in pistachio (*Pistacia vera* L.). J. Hort. Sci. 69: 1117-1122.

11.Mirzaei, S., Bahar M., and Sharifnabi, B. 2003. A phylogenetic study of Iranian wild pistachio species and some cultivars using RAPD markers. Acta Hort. 726: 39-43. (In Persian).

12.Murray, H.C., and Thompson, W.F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight Plant DNA. Nucleic Acid Res. 8, 4321– 4325.

13.Prevost, A., and Wilkinson M.J. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. Theo. App Gene. 98: 107–112.

14.Tagizade, A., Ahmadi, J., Haddad, R., and Zarrabi, M. 2010. A comparative analysis of ISSR and RAPD markers for studying genetic diversity in Iranian pistachio cultivars. Iran J. Gene. Plant Breed. Vol. 1, No. 1.

Archive of SID

www.SID.ir

15. Tajabadipur, A. 1997. Identification of some pistachio cultivars. M.Sc. thesis, Faculty of Agriculture, Tehran University, Tehran, Iran. (In Persian).
16. Vargas, F.J., and M.A., Romero. 1992. Observaciones sobre variedades de pistachro. recientmete introducidusen tarragona (Espana). FR Agricalture, Programmede Recherche Agrimed, GREMPA, Rap. EUR 14081 (5): 489-494.
17. Vezvai, A., Vahdati, K., and Tajabadi pour, A. 2003. Evaluation guide for almond, walnuts and pistachios trees. Khaniran Press, Tehran, 164 p. (In Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Plant Production, Vol. 20 (1), 2013
http://jopp.gau.ac.ir

Investigation of genetic diversity among *Pistachio vera* in the khorasan by using morphological characters and RAPD molecular marker

***S. Tayefeh Ali Akbarkhany[1], A.R. Talaie[2] and M.R. Fatahi[3]**
[1]M.Sc. Student, Dept. of Horticultural Science, Tehran University, [2]Professor, Dept. of Horticultural Science, Tehran University, [3]Associate Prof., Dept. of Horticultural Science, Tehran University

Abstract

Pistachio has a high genetic diversity because of dioeciously and heterozygous nature. In this study, morphological and phonological characters of 40 male and female genotypes, so RAPDs marker of 38 male and female genotyps from Faizabad region of Khorasan province were evaluated. Results showed that some characters such as tree canopy, annual growth, winter bud density and the time of flowering and also leaf bud burst with high coefficients of variation showed high diversity. The cluster analysis of morphological data divided the female and male genotypes into 3 groups. Among the female genotypes, some of them such as 'Badami Sefid1', 'Sefid Sabuni2', 'Garme Siah' and 'Ghermez Dorosht Zoodras' were the best genotypes, in point of split shells, size of nut, protein and lipids percentage of kernel. In RAPDs experiment fifteen primers were used that produced 123 bands which among them 115 were polymorphic even between two genotypes. Size of produced bands was in range of 200-300 bp. The highest number bands were 12 and achieved by BC18 primer. Means of polymorphism among used primers was 92.83 percentages. Total resolving power was 74.54 with the mean of 4.97. Primer BC12 RAPD showed the most resolving power equal to 7.89. Based on similarity matrices the lowest genetic similarity (0.18) was between 'Garme Siah' and 'Sefid Sabuni1' genotypes and the highest (0.70) detected between 'Badami Sefid3' and 'Genotype7'. Cluster analysis based on Dice similarity coefficients and UPGMA method were divided the genotypes into 8 sub-clusters at similarity level of 0.41, which 'Sefid Sabuni1' and 'Genotype4' genotypes of the other genotypes was separated individually. Results showed that there are high genetic diversity in the studied genotypes.

Keywords: Cluster analysis; Dice coefficient; Molecular marker; Morphological traits; Pistachio

*Corresponding Author; Email: somaye.tayefeh@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir