مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۹، شماره ۱، سال ۱۳۹۲

تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم انار ترش ایران (*Punica granatum* L.) بر اساس نشانگرهای ریزماهواره

Genetic Diversity of Iranian Sour Pomegranate (*Punica granatum* L.) Germplasm Based on Microsatellite Markers

مهربانو کاظمی الموتی[۱]، محمدعلی ابراهیمی[۲]، مهرشاد زین‌العابدینی[۳]، محسن مردی[۴]، طه رودبار شجاعی[۵]، مریم پژمان مهر[۵] و هاشم پورایراندوست[۵]

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه پیام نور، تهران
۳، ۴ و ۵- به ترتیب استادیار، دانشیار و محقق، پژوهشکده بیوتکنولوژی ایران، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۳۰

چکیده

کاظمی الموتی، م.، ابراهیمی، م. ع.، زین‌العابدینی، م.، مردی، م.، رودبار شجاعی، ط.، پژمان مهر، م. و پورایراندوست، ه. ۱۳۹۲. تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم انار ترش ایران (*Punica granatum* L.) بر اساس نشانگرهای ریزماهواره. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۹:** ۱۹۷ - ۱۷۹

در این مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران موجود در کلکسیون انار یزد با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره بررسی شد. تجزیه خوشه‌بندی با روش‌های UPGMA و NJ، با استفاده از نرم‌افزار Mega4، و تجزیه ساختار با روش Bayesian با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.2 و تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) با نرم‌افزار Ntsys، به منظور بررسی روابط ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌ها انجام شد. آغازگرهای SSR-MP26 و SSR-MP39 به ترتیب با ۰/۹۰۷ و ۰/۵۴۴ بیشترین و کمترین PIC را نشان دادند. بررسی نتایج تمامی روش‌های ذکر شده نشان داد که طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مستقل از منشا جغرافیایی و نام‌گذاری پیشنهادیشان بود. نتایج این بررسی نشان داد که کلکسیون انار یزد ممکن است حاوی ژنوتیپ‌های متفاوت با اسامی مشابه و یا ژنوتیپ‌های یکسان با اسامی متفاوت باشد که ضروری است با تحقیقات بیشتر مورد تایید قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: انار، تنوع ژنتیکی، نشانگر ریزماهواره (SSR).

نویسنده مسئول: mardi@abrii.ir تلفن: ۰۲۶۳۲۷۰۰۸۴۵

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. از شاخه پیدازادان و رده نهاندانگان است که به کوچک‌ترین خانواده گیاهی دولپه‌ای‌ها (Punicaceae) تعلق دارد (Awamleh *et al.*, 2009). از این تیره در ایران، فقط گونه *Punica granatum* وجود دارد که انارهای معمولی و یا خوراکی در این گونه قرار داشته و بومی ایران و نواحی مدیترانه هستند، بنابراین ایران خاستگاه اصلی و مرکز تنوع گونه *Punica granatum* به شمار می‌رود (Stover and Mercure, 2007). بر اساس گزارش رشینگر و همکاران (Rechinger *et al.*, 1966)، مراکز عمده پراکنش انار در ایران، عراق، افغانستان، ترکمنستان و پاکستان قرار دارد. امروزه ارقام خوراکی انار در اکثر نقاط دنیا به ویژه اسپانیا، یونان، مراکش، افغانستان، هندوستان، چین، ژاپن، ترکمنستان و ازبکستان کشت می شود و ایران از نظر سطح کشت تجاری، مرغوبیت ارقام و میزان تولید انار، رتبه اول جهان را در اختیار دارد (Vezvaei, 1988).

اجرای موفق یک پروژه به‌نژادی، به میزان آگاهی از وجود تنوع ژنتیکی در داخل و بین جمعیت‌های گونه گیاهی بستگی دارد. مسئله مهم در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف، میزان و الگوی تنوع ژنتیکی در داخل گونه‌ها است (Butlin and Tregenza, 1998).

پیرامون جنس Punica که در برگیرنده انار زراعی است، تنوع گونه‌ای کمی مشاهده می‌شود، اما تنوع مورفولوژیکی بسیار بالایی در داخل ارقام و ژنوتیپ‌های موجود در ایران مشاهده می‌شود. از آن جا که انار زراعی گونه دیپلوئید بوده و تولید مثل آن عمدتاً به روش غیرجنسی انجام می‌شود، وجود تنوع ژنتیکی در کلون‌های بومی و تجاری این گیاه، همواره از مهم‌ترین سئوالات محققان بوده است (Behzadi Shahrbabaki, 1998). روش‌های قدیمی شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌ها بر مبنای مشاهدات فنوتیپی بوده که به دلیل دوره رشد طولانی درختان میوه و قرار داشتن در معرض تغییرات محیطی، این روش‌ها خیلی قابل اتکا نیستند. امروزه، تعیین اصالت ژنتیکی محصولات باغی از سطح مورفولوژی و فنولوژی فراتر رفته و به وسیله روش‌های نوین زیست فناوری در سطح ژنوتیپ گیاه انجام می‌شود. در حال حاضر با به‌کارگیری همزمان اطلاعات ژنوتیپی و فنوتیپی امکان تعیین دقیق هویت ارقام مهم باغی کشور میسر شده است. مشارکت روش‌های جدید در برنامه‌های شناسایی ارقام، فرآیند شناسایی به وسیله انگشت‌نگاری هر ژنوتیپ را در هر مرحله رشدی و به طور مستقل از فاکتورهای محیطی تسریع می‌کند. بنابراین، با توجه به این که اغلب گونه‌های درختان میوه به صورت رویشی تکثیر می‌شوند، شناسایی ژنوتیپ‌ها در مراحل مختلف رشد با استفاده از روش‌های نوین، امکان ارزیابی ژرم‌پلاسم و ایجاد مرجعی قابل اتکا به منظور استفاده در

Archive of SID

www.SID.ir

برنامه‌های به‌نژادی مختلف را فراهم می‌کند. بدین منظور مطالعات متعددی در انار توسط محققان مختلف و به کمک نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی متفاوت انجام شده است.

اکرمی و همکاران (Akrami *et al.*, 2004)، در تحقیقی مهم‌ترین خصوصیات ارقام انار موجود در کلکسیون ساوه را مورد بررسی قرار دادند. غربال اولیه بر اساس خصوصیات طبیعی مهم از جمله رنگ پوست قرمز، دانه قرمز با مزه ملس و ارقام پوست قرمز، دانه قرمز با مزه شیرین و ارقام پوست قرمز، دانه قرمز با مزه ملس، ارقام پوست سیاه و ارقام بی‌هسته (نرم دانه) مشخص شد. رحیمی و همکاران (Rahimi *et al.*, 2005)، روابط ژنتیکی یازده ژنوتیپ کاملاً نزدیک انار ایران را با استفاده از نشانگرهای AFLP مورد ارزیابی قرار دادند. بیشترین شباهت بین ارقام دبه‌ای بم و دخترحمومی (۷۱/۹ درصد) و کمترین شباهت بین ارقام پوست سیاه و آمنه خاتونی (۲۰/۳ درصد) وجود داشت. زمانی و همکاران (Zamani *et al.*, 2007)، به مطالعه همبستگی بین صفات کمی و کیفی میوه انار و تجزیه و تحلیل فاکتور آن‌ها پرداختند. تجزیه کلاستر با استفاده از هفت عامل اصلی ژنوتیپ‌ها را به پنج کلاستر تقسیم کرد. موقعیت ژنوتیپ‌ها در تجزیه تری‌پلات با استفاده از سه فاکتور نیز موجب تفکیک ژنوتیپ‌های با طعم شیرین از ژنوتیپ‌های با طعم ملس و ملس شد. سرخوش و همکاران (Sarkhosh *et al.*, 2006) با استفاده از نشانگرهای رپید (RAPD)، سطح تنوع موجود بین ۲۴ ژنوتیپ انار ایرانی را بررسی کردند. بالاترین و پائین‌ترین شباهت‌ها بین ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۰/۸۹ و ۰/۲۹ بود و در تشابه ۶۰٪ ژنوتیپ‌ها به چهار زیر شاخه تقسیم شدند.در حال حاضر، نشانگرهای ریزماهواره‌ها به دلیل پوشش مناسب ژنومی و تکرارپذیری بالا یکی از بهترین و کامل‌ترین ابزارهای مولکولی در بررسی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های بسیار نزدیک به‌هم به شمار می‌آیند. ریزماهواره‌ها توالی‌های ۱ تا ۶ نوکلئوتیدی هستند که در ژنوم تمام پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها وجود دارند. این توالی‌ها عموماً از چندشکلی بالایی برخوردارند و در نواحی کدکننده و غیرکدکننده ژنوم موجودات مختلف وجود دارند (Zane *et al*., 2002؛ Karp *et al*., 1997).

هدف از این تحقیق، ارزیابی کارایی نشانگرهای ریزماهواره جداشده از گونه *Punica granatum* در بررسی تنوع و روابط ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های انار ترش ایران شامل ارقام زینتی، وحشی و خوراکی و نیز ارزیابی دقیق ژنوتیپ‌های موجود به منظور شناسایی نمونه‌های تکراری و ارائه پیشنهاد جهت احداث کلکسیون پایه بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق

Archive of SID
www.SID.ir

شامل ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران از کلکسیون انار یزد بود. در این تحقیق، بعد از جمع‌آوری برگ‌ها در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۶ استخراج DNA از برگ‌های جوان به روش‌های مختلف از قبیل CTAB (Murray and Thampson, 1980) و دلاپورتا و همکاران (Dellaporta *et al.*, 1983) انجام شد و روش استخراج به کمک کیت بایونیر (Bioneer) به عنوان مناسب‌ترین روش، جهت استخراج DNA با کیفیت انتخاب شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده ازدستگاه ترموسایکلر Biorad در حجم ۱۰ میکرولیتر و در پلیت ۳۸۴ تایی انجام شد، که هر واکنش حاوی ۳ میکرولیتر DNA ژنومی (۲۰-۳۰ نانوگرم DNA)، ۱ میکرولیتر بافر پی‌سی‌آر (10X (PCR ، ۰/۵ میکرولیتر DNA پیز (1mM (dNTPs، ۰/۰۵ از آغازگر نشاندار، ۰/۱۵ از آغازگر غیر نشاندار، ۱/۵ واحد آنزیم تگ DNA پلیمراز (Taq DNA Polymerase)، ۰/۹میکرولیتر کلرید منیزیم ۱۵ میلی‌مولار و ۴/۲۸ میکرولیتر آب دوبار تقطیر بود که حجم محیط واکنش به ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه و مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی شامل ۱۰ چرخه حرارتی تاچ داون و متعاقباً ۲۵ چرخه با دمای اتصال مشخص برای هر آغازگر انجام شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره پلیمراز در الکتروفورزعمودی ژل پلی‌آکریل آمید ۶ درصد و با کمک دستگاه (DNA Analyser 4300) تفکیک و ارزیابی شدند. آلل‌های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره به صورت صفر و یک (یک برای مشاهده آلل و صفر در صورت عدم مشاهده آلل) امتیازدهی شدند و ارزیابی شاخص‌های تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای و ساختار جمعیت به کمک نرم‌افزارهای PowerMarker 3.25، Splitstree 4.11.3 و Structure 2.3 انجام شد.

به منظور انتخاب آغازگرهایی با کارایی بالا، آغازگر ریزماهواره‌ای که از ژنوم انار جداسازی شده بودند (Pirseyedi *et al.*, 2010)، در ۱۰ نمونه تصادفی از ارقام انار ترش موجود در کلکسیون انار شهرستان یزد، مورد آزمایش قرار گرفتند. آزمایش‌های اولیه بر روی ژل آکریل آمید معمولی انجام شد. تعداد هفت آغازگر انتخاب و جهت نشاندارشدن با IRD 700 به شرکت مربوطه سفارش داده شد.

نتایج و بحث

نام و منشاء ژنوتیپ‌های انانر ترش کلکسیون یزد در جدول ۱ و مشخصات آغازگرهای به کار برده شده در این بررسی در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

با انجام آزمایش‌های اولیه و از مجموعه آغازگرهای مورد استفاده، هفت آغازگر چند شکلی مناسب نشان داده و مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۳). در مجموع، ۳۰ آلل چند

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- اسامی و منشاء ژنوتیپ‌های انار ترش کلکسیون انار یزد

Table 1. Name and origin of Iranian sour pomegranate genotypes of Yazd pomegranate collection

ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin	ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin
1	زرد انار پوست کلفت ترش Zard Anar Post Koloft Torsh	فارس Fars	24	ترش سبز هسته ریز سیدون Torsh Sabz Hasteh Rize Sidon	فارس Fars
2	وحشی نرک مرودشت ترش Vahshi Narak Marvdashet Torsh	فارس Fars	25	پوست سفید ایج استهبان ترش Post Sefid Eij EstahbanTorsh	فارس Fars
3	پنجه عروس کفر ترش Panjeh Arose Khafare Torsh	فارس Fars	26	مصری ترش کازرون Mesri Torsh Kazeroon	فارس Fars
4	کدرو قصرالدشت ترش Kadro GHasr Dasht Torsh	فارس Fars	27	ترش سبز کازرون Torsh Sabze Kazeroon	فارس Fars
5	ترک قصر الشت ترش Tork Ghasr Dasht Torsh	فارس Fars	28	بذری مروست مهریز ترش Bazri Marvast Mahrize Torsh	یزد Yazd
6	رمی ایج استهبان ترش Rami Eich Estahban Torsh	فارس Fars	29	دانه قرمز هراتی مهریز ترش Daneh Ghermeze Harati Mahrize Torsh	یزد Yazd
7	کدرو شسری قصر الشت ترش Kadro SHhasri Ghasr Dasht Torsh	فارس Fars	30	ترش پوست سفید ابراندآباد Torsh Post Sefid Abarand Abad	یزد Yazd
8	شبستان پوست کلفت ترش SHabestan Post Koloft Torsh	فارس Fars	31	گل معمولی تفت ترش Gole Mamoli Taft Torsh	یزد Yazd
9	فاروق ایج استهبان ترش Farogh Eij Estahban Torsh	فارس Fars	32	گل گبری تفت ترش Gole Gabari Taft Torsh	یزد Yazd
10	ترش سبز سروستان Torsh Abze Sarvestan	فارس Fars	33	پوست سیاه اردستان ترش Poost seahe Ardakan Torsh	یزد Yazd
11	کجی قصر الشت ترش Khajeei GHasr Dasht Torsh	فارس Fars	34	گل دبه ای تفت ترش Gole Dabehei Taft Torsh	یزد Yazd
12	کدور پوست پیازی ترش Kadvar Post Piazi Torsh	فارس Fars	35	گل پیوندی تفت ترش Gole Pivandi Taft Torsh	یزد Yazd
13	شور پر بار سیدون مرودشت ترش Shor Por Bar Saidon Marvdasht Torsh	فارس Fars	36	ترش پوست قرمز هرابرجان Torsh Poost Ghermeze Haraberjan	یزد Yazd
14	ترش سبز قصر الدشت Torsh Sabze Ghasr Dasht	فارس Fars	37	گلو باریک هرات مهریز ترش Gelo Barik Harat Mahrize Torsh	یزد Yazd
15	خانی کم پی سیدون ترش Khani Kam Piyeh Sidon Torsh	فارس Fars	38	نیمولی ریز هرابرجان ترش Nimoli Rize Heraberjan Torsh	یزد Yazd
16	کلوخه سروستان ترش Klokhea Sarvestan Torsh	فارس Fars	39	خانی دانه سفید ترش هرابرجان KHani Daneh Sefid Torsh Heraberjani	یزد Yazd
17	قلاتون ایج استهبان ترش Ghalaton Eij EstahbanTorsh	فارس Fars	40	گل گزی ترش هرابرجان Gol Gazey Torsh Haraberjan	یزد Yazd
18	ترش سبز سروستان Torsh Sabze Sarvestan	فارس Fars	41	کوتجی پوست نازک بافق ترش Kotji Poost NaZok Bafgh Torsh	یزد Yazd
19	وحشی نرک سروستان ترش Vahshi Narak SarvestanTorsh	فارس Fars	42	ترش پوست سفید ابرکوه Torsh Poost Sefid Abarkoh	یزد Yazd
20	رباب سروستان ترش Robab Sarvestan Torsh	فارس Fars	43	گل مگزی تفت ترش Gol Magasi Taft Torsh	یزد Yazd
21	پوست سفید سیدون ترش Post Sefid Sidon Torsh	فارس Fars	44	کرمانی ترش بافق Kermani Torsh Bafgh	یزد Yazd
22	اتابکی پوست قرمز سروستان ترش Atabaki Post Ghermez Sarvestan Torsh	فارس Fars	45	ترش پوست نازک ابرکوه Torsh Poost Nazok Abarkoh	یزد Yazd
23	وحشی نرک ایج استهبان ترش Vahshi Narak Eij EstahbanTorsh	فارس Fars	46	رادکی دانه قرمز بافق ترش Radki Daneh Ghermeze Bafgh Torsh	یزد Yazd

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱

Table 1. Continued

ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin	ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin
47	شاهی دانه قرمز بافق ترش Shahi Daneh Ghermez Bafgh Torsh	یزد Yazd	71	کوهی سیری طبس ترش Kohi Saeri Tabas Torsh	خراسان Khorasan
48	گل ترش معمولی تفت Gol Torsh Mamoli Taft	یزد Yazd	72	قرمز کوهی طبس ترش GHermeze Kohi Tabas Torsh	خراسان Khorasan
49	نرک ترش بافق Narak Torsh Bafgh	یزد Yazd	73	ترش پوست نازک بیرجند Torsh Poost Nazok Birjand	خراسان Khorasan
50	رادکی دانه سفید بافق ترش Radki Daneh Sefid Bafgh Torsh	یزد Yazd	74	لم سری انار جنگلی ترش Lam Sari Anar Jangali Torsh	مازندران Mazandaran
51	تخم موشی تفت ترش Tokhm Moshi Taft Torsh	یزد Yazd	75	ترش نار ریز زیرآب Torsh Nar Riz Zirab	مازندران Mazandaran
52	پوست قرمز چک چک اردکان ترش Poost Ghermeze Chak Chak Ardakan Torsh	یزد Yazd	76	وحشی جنگلی بابلسر ترش Vahshi Jangali Babolsar Torsh	مازندران Mazandaran
53	ترش پوست کلفت ساغند Torsh Poost Koloft Saghand	یزد Yazd	77	سیاه نار بهشهر ترش Siah Nar Behshahr Torsh	مازندران Mazandaran
54	ترش پوست کلفت ساغند Torsh Poost Koloft Saghand	یزد Yazd	78	ترشی گلی نار بهشهر Torshi Goli Nar Behshahr	مازندران Mazandaran
55	ترش تفتی مروست مهریز Torsh Tafti Marvast Mahrize Marvast Mahrize	یزد Yazd	79	پوست قرمز گرگان ترش Poost Ghermeze Gorgan Torsh	مازندران Mazandaran
56	بافتی پوست کلفت ساغند ترش Bafti Poost Koloft Saghand Torsh	یزد Yazd	80	ترش زیر آب سواد کوه Torsh Zir Ab Savad Koh	مازندران Mazandaran
57	ترش پوست کلفت ساغند Torsh Poost Koloft Saghand SHirin	یزد Yazd	81	ترش جنگلی زیر آب Torsh Jangali Zir Ab	مازندران Mazandaran
58	شی انبری تفت ترش She Anbali Taft Torsh	یزد Yazd	82	دم بلند گرگان ترش Dom Boland Gorgan Torsh	مازندران Mazandaran
59	میر شرفی طبس ملس Mi Sharafi Tabas Malas	خراسان Khorasan	83	ترش نار بهشهر Torsh Nar Behshahr	مازندران Mazandaran
60	دم انبروتی ترش تربت حیدریه Dom Anbroti Torsh Torbat Hidarieh	خراسان Khorasan	85	ترش نار درشت زیر آب Torsh Nar Dorosht Zir Ab	مازندران Mazandaran
61	ترش شهوار کاشمر Torsh SHahvar Kashmar	خراسان Khorasan	86	ترش جنگلی گرگان Torsh Jangali Gorgan	مازندران Mazandaran
62	نرک سنگ سفید ترش Narak Sang Sefid Torsh	خراسان Khorasan	87	گلی زیر آب سواد کوه ترش Goli Zir Ab Savadkoh Torsh	مازندران Mazandaran
63	کوهی نقاب کاشمر ترش Kohi Neqhab Kashmar Torsh	خراسان Khorasan	88	ساوه نار بهشهرترش Saveh Nar Behshahr Torsh	مازندران Mazandaran
64	سگ نار پوست قرمز ترش Sag Nar Poost Ghermeze Torsh	خراسان Khorasan	89	ترش اشرف زیر آب Torsh Ashraf Zirab	مازندران Mazandaran
65	سرخ درشت کاشمر ترش Sorkhak Dorosht Kashmar Torsh	خراسان Khorasan	90	بینام دستجرد ترش Binam Dastjerd Torsh	اصفهان Isfahan
66	شلقمی پوست سفید ترش SHalghami Post Sefid Torsh	خراسان Khorasan	91	پوست قرمز دستجرد ترش Post Ghermeze Dastjerd Torsh	اصفهان Isfahan
67	قرمز گلوبند ترش Ghermeze Gelo Band Torsh	خراسان Khorasan	92	ساوه ای ترش دستجرد Savehei Torsh Dastjerd	اصفهان Isfahan
68	ترش شهوار بجستون Torsh Shahvar Bajeston	خراسان Khorasan	93	ترش شماره یک کاشان Torsh Shomarae Eke Kashan	اصفهان Isfahan
69	سگی ترش خوسف بیرجند Sagi Torsh Khosf Birjand	خراسان Khorasan	94	اردستانی پوست قرمز ترش Ardestani Post Ghermez Torsh	اصفهان Isfahan
70	ترش پوست کلفت بیرجند Torsh Poost Koloft Birjand	خراسان Khorasan	95	سوقر هما آباد ترش Soghar Homa Abad Torsh	اصفهان Isfahan

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱ Table 1. Continued

ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin	ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin
96	ترش شهوار دستجرد Torsh Shahvar Dastjerd	اصفهان Isfahan	119	خراسانی پوست سفید ترش Khorasani Post Sefid Torsh	سیستان Sistan
97	گلی دانه سفید نایین ترش Goli Daneh Sefid Naein Torsh	اصفهان Isfahan	120	پوست سفید بزمانی ترش Post Sefid Bazmani Torsh	سیستان Sistan
98	گلی دانه قرمز نایین ترش Gol Daneh Ghermez Naein Torsh	اصفهان Isfahan	121	نرک وحشی ترش Narak Vahshi Torsh	سیستان Sistan
99	شهوار پوست قرمز ترش Shahvar Post Ghermez Torsh	اصفهان Isfahan	122	ترش نکجوب بمپور Torsh Nakjob Bampor	سیستان Sistan
100	بذری ترش شهرضا Bazre Torsh Sahreza	اصفهان Isfahan	123	ترش معمولی زابل Torsh Mamoli Zabol	سیستان Sistan
101	ترش سرخ پوست شهرضا Torsh Sorkh Poost Shahreza	اصفهان Isfahan	124	سیب هوشک ترش Sib Hoshak Torsh	سیستان Sistan
102	سفید پوست ترش شهرضا Sefid Poost Shahreza Torsh	اصفهان Isfahan	125	پوست قرمز بزمانی ترش Post Ghermez Bazmani Torsh	سیستان Sistan
103	انباری ترش کاشان Anbari Torsh Kashan	اصفهان Isfahan	126	بزمانی پوست کلفت ترش Bazmani Post Koloft Torsh	سیستان Sistan
104	ترش پوست قرمز اردستان Torsh Poost Ghermeze Ardestan	اصفهان Isfahan	127	وشیک ترش Vashik Torsh	سیستان Sistan
105	اردستانی دانه قرمز ترش Ardestani Daneh Sorkh Torsh	اصفهان Isfahan	128	وحشی تمینی ترش Vahshi Tamini Torsh	سیستان Sistan
106	شهوار ترش پوست سفید زواره Shahvar Torsh Poost Sefid Zavareh	اصفهان Isfahan	129	خورس حاجی آباد ترش Khors Haji Abad Torsh	هرمزگان Hormozgan
107	سبز دانه قرمز ترش Sabzeh Daneh Ghermes Torsh	اصفهان Isfahan	130	ترش پوست سفید حاجی آباد Torsh Post Sefid Haji Abad	هرمزگان Hormozgan
108	ترش کم بار کوهپایه Torsh Kam Bar Kohpayeh	اصفهان Isfahan	131	وحشی ارتفاعات گنو ترش Vahshi Ertefaat Geno Torsh	هرمزگان Hormozgan
109	ترش ملس زواره اردستان Torsh Malas Zavareh Ardestan	اصفهان Isfahan	132	نی تلخی حاجی آباد ترش Nei Talkhei Haje Abad Torsh	هرمزگان Hormozgan
110	ترش زاغی کوهپایه Torsh Zaghi Kohpayeh	اصفهان Isfahan	133	ترش میناب Torsh Minab	هرمزگان Hormozgan
111	ترش خاتونی نطنز Torsh Khatoni Natanze	اصفهان Isfahan	134	میر عبداحسینی ترش Mir Abdolhosaeni Torsh	هرمزگان Hormozgan
112	سراهی پوست سرخ ترش Serahi Poost Sorkh Torsh	اصفهان Isfahan	135	نرک کن ترش Narak Kan Torsh	تهران Tehran
113	ترش دماغ بسته کوهپایه Torsh Damagh Basteh Kohpayeh	اصفهان Isfahan	136	پوست سبز ورامین ترش Poost Sabze Varamin Torsh	تهران Tehran
114	ترش دانه قرمز نجف آباد Torsh Daneh Ghermeze Najaf Abad	اصفهان Isfahan	137	وحشی کوهستان البرز ترش Vahshi Koohestan Alborze Torsh	تهران Tehran
115	ترش ملس زواره اردستان Torsh Malas Zavareh Ardestan	اصفهان Isfahan	138	سفید پوست دزفول ترش Sefid Poost Dezful Torsh	خوزستان Khuzestan
116	گست سراوان ترش Gast Saravan Torsh	سیستان Sistan	139	زجی ترش رامهرمز Zaje Torsh Ramhormoze	خوزستان Khuzestan
117	کوهیک ترش Kohik Torsh	سیستان Sistan	140	پوست سرخ دانه سفید ترش Poost Sorkh Daneh Sefid Torsh	خوزستان Khuzestan
118	ترش سرجو Torsh Sarjo	سیستان Sistan	141	ترش سبز باغ ملک ایذه Torsh Sabze Bagh Malek Eizeh	خوزستان Khuzestan

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱

Table 1. Continued

ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin	ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin
142	مشموری ترش رامهرمز Mashmori Torsh Ramhormoze	خوزستان Khuzestan	161	رش پوست کلفت ترش Rash Poost Koloft Torsh	کهگیلویه Kohgiloyeh
143	بذری ترش دزفول Bazri Torsh Dezful	خوزستان Khuzestan	162	پوست قرمز ترش Post Ghermeze Torsh	کهگیلویه Kohgiloyeh
144	ریوه ترش دزفول Riveh Torsh Dezful	خوزستان Khuzestan	163	ترش سبز پوست نازک Torsh Sabze Poost Nazok	کهگیلویه Kohgiloyeh
145	نرک لاسجرد ترش Narak Lasajard Torsh	سمنان Semnan	164	دریله مرادی مروست ترش Derileh Moradi MarivanTorsh	کردستان Kordestan
146	شهوار ترش لاسجرد Shahvar Torsh Lasajard	سمنان Semnan	165	بد تخم پوست سفید پاوه ترش Bad Tokhm Poost Sefid Paveh Torsh	کردستان Kordestan
147	ترش پر بار درجزین Torsh Por Bar Darjazin	سمنان Semnan	166	بد تخم دانه قرمز پاوه ترش Bad Tokhm Daneh GHermeze Paveh Torsh	کردستان Kordestan
148	سگ نار لاسجرد ترش Sag Nar Lasajard Torsh	سمنان Semnan	167	بد تخم پوست قرمز پاوه ترش Bad Tokhm Poost GHermeze Paveh Torsh	کردستان Kordestan
149	ترش پوست قرمز درجزین Torsh Poost Ghermeze Darjazin	سمنان Semnan	168	ترش صوری پاوه Torsh Sori Paveh	کردستان Kordestan
150	اردستانی دانه قرمز ترش Ardestani Daneh Ghermeze Torsh	سمنان Semnan	169	دریله پر آب مروست ترش Derileh Por Ab MarivanTorsh	کردستان Kordestan
151	سفید ربی ترش Sefid Rabi Torsh	چهار محال Chahar Mahal	170	دریله دانه قرمزمروست ترش Derileh Daneh GHermeze MarivanTorsh	کردستان Kordestan
152	برگ موردی ترش Barg Moredi Torsh	چهار محال Chahar Mahal	171	پوست سفید پاوه ترش Poost Sefid Paveh Torsh	کردستان Kordestan
153	جنگلی خودرو ترش Jangali Khodro Torsh	چهار محال Chahar Mahal	172	ترش پوست سفید ساوه Torsh Poost Sefid Saveh	مرکزی Markazi
154	نادرانی پوست سفید ترش Naderani Poost Sefid Torsh	چهار محال Chahar Mahal	173	وحشی ترش گلمنخانه Vahshi Torsh Golmankhaneh	آذربایجان غربی Azarbayejan Gharbi
155	شهری پوست سرخ ترش Shahri Poost Sorkh Torsh	چهار محال Chahar Mahal	174	ترش نار تسوج شبستر Torsh Nar Tasoj Shabestar	آذربایجان غربی Azarbayejan Gharbi
156	ترش پوست نازک Torsh Poost Nazok	چهار محال Chahar Mahal	175	کوهی گلمنخانه ترش Kohi Golmankhaneh Torsh	آذربایجان غربی Azarbayejan Gharbi
157	پوست کلفت ترش Poost Koloft Torsh	چهار محال Chahar Mahal	176	ترش گلمنخانه ارومیه Torsh Golmankhaneh Eorumieh	آذربایجان غربی Azarbayejan Gharbi
158	وحشی ترش Vahshi Torsh	کهگیلویه Kohgiloyeh	177	ترش گلمنخانه ارومیه Torsh Golmankhaneh Eorumieh	آذربایجان غربی Azarbayejan Gharbi
159	ترش پوست کلفت Torsh Poost Koloft	کهگیلویه Kohgiloyeh	178	کوهستانی تسوج ترش Kohestani Tasoj Torsh	آذربایجان شرقی Azarbayejan Sharghi
160	ترش صورتی Torsh Sorati	کهگیلویه Kohgiloyeh	179	ترش دانه ریز دره هوراند Torsh Daneh Rize Dareh Horand	آذربایجان شرقی Azarbayejan Sharghi

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱

Table 1. Continued

ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin	ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin
180	ترش دانه درشت دره هوراند Torsh Daneh Dorosht Dareh Horand	آذربایجان شرقی Azarbayejan Sharghi	200	سبز پوست داوران رفسنجان ترش Sabze Poost Davaran Rafsanjan Torsh	کرمان Kerman
181	کوهستانی ترش Kohestani Torsh	آذربایجان شرقی Azarbayejan Sharghi	201	پوست قرمز راور ترش Poost Ghermez Ravar Torsh	کرمان Kerman
182	سور کلاه ترش ریجاب Soor Kolah Torsh Rijab	کرمانشاه Kermanshah	202	ترش دانه قرمز راور Torsh Daneh Ghermez Ravar	کرمان Kerman
183	ترش پوست نازک ریجاب Torsh Poost Nazok Rijab	کرمانشاه Kermanshah	203	ترش پوست قرمز رفسنجان Torsh Poost Ghermez Rafsanjan	کرمان Kerman
184	سبز قمی ترش Sabze Ghomi Torsh	کرمانشاه Kermanshah	204	ترش پوست پیازی راور Torsh Poost Piazye Ravar	کرمان Kerman
185	قمی دانه درشت ترش GHomi Daneh Dorosht Torsh	کرمانشاه Kermanshah	205	نرک داوران رفسنجان ترش Narak Davaran Rafsanjan Torsh	کرمان Kerman
186	شهربانی ترش ریجاب Shahrbani Torsh Rijab	کرمانشاه Kermanshah	206	ترش دراج دوران Torsh Dorag Davaran	کرمان Kerman
187	ترش پوست سفید مهران Torsh Poost Sefid Mehran	ایلام Ilam	207	کیوانی راور ترش Kivani Ravar Torsh	کرمان Kerman
188	ترش سبز چرمک کلم Torsh Sabze Charmak Kalam	ایلام Ilam	208	سفید پوست راور ترش Sefid Poost Ravar Torsh	کرمان Kerman
189	سک پوست سفید شهربابک ترش Sak Post Sefid Shahr Babak Torsh	کرمان Kerman	209	ترش درجه دو راور Torsh Darajeh Do Ravar	کرمان Kerman
190	دبه ای سر جنگل ترش Dabehei Sar Jangal Torsh	کرمان Kerman	210	میرزایی ترش راور Mirzaei Torsh Ravar	کرمان Kerman
191	سک پوست قرمز شهربابک ترش Sak Post Ghermez Shahr Babak Torsh	کرمان Kerman	211	روده ای داوران ترش Roodehei Davaran Torsh	کرمان Kerman
192	قاسم مندلی رفسنجان ترش Ghasem Mandali Rafsanjan Torsh	کرمان Kerman	212	ترش درجه یک راور Torsh Darajeh Ek Ravar	کرمان Kerman
193	وحشی بهرنگ جیرفت ترش Vahshi Behrang Jiroft Torsh	کرمان Kerman	213	کیوانی چترود ترش Kivani CHatrod Torsh	کرمان Kerman
194	تایی پوست سفید چترود ترش Taei Poost Sefid Chatrod Torsh	کرمان Kerman	214	ترش ماهانی چترود Torsh Mahani Chatrod	کرمان Kerman
195	سرخ پوست وحشی ترش Sorkh Poost Vahshi Torsh	کرمان Kerman	215	کدویی ترش خبر بافت Kadoei Torsh Khabar Baft	کرمان Kerman
196	بافتنی پوست قرمز راور ترش Baftani Poost Ghermez Ravare Torsh	کرمان Kerman	216	خودرو وحشی خبر بافت ترش Khordo Vahshi Khabar Baft Torsh	کرمان Kerman
197	ترش پوست سفید شهداد Torsh Poost Sefid SHahdad	کرمان Kerman	217	ترش کم بار خبر بافت Torsh Kam Bar Khabar Baft	کرمان Kerman
198	تایی پوست قرمز ترش Taei Poost Ghermez Torsh	کرمان Kerman	218	ترش سبز پوست سفید ملس Torsh Sabze Poost Sefid Malas	کرمان Kerman
199	سبز پوست وحشی جیرفت ترش Sabz Poost Vahshi Jiroft Torsh	کرمان Kerman	219	قمی پوست کلفت ترش Ghomi Poost Koloft Torsh	لرستان Lorestan

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۱

Table 1. Continued

ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin	ردیف No.	نام ژنوتیپ Name of genotype	منشاء Origin
220	بواسی پوست سفید ترش Bavasi Poost Sefid Torsh	لرستان Lorestan	230	قمی پوست نازک خرم آباد ترش Ghomi Poost Nazok Khoram Abad Torsh	لرستان Lorestan
221	خانلری خرم آباد ترش Khanlari Khoram Abad Torsh	لرستان Lorestan	231	لری دانه قرمز ترش Lori Daneh Ghermeze Torsh	لرستان Lorestan
222	مرادی دانه قرمز ترش Moradi Daneh Ghermeze Torsh	لرستان Lorestan	232	شهوار ترش طارم Shahvar Torsh Tarom	زنجان Zanjan
223	قرمز پوست کلفت ترش Ghermeze Poost Koloft Torsh	لرستان Lorestan	233	ترش پوست سفید طارم Torsh Poost Sefid Tarom	زنجان Zanjan
224	بواسی پوست قرمز ترش Bavasi Poost GHermeze Torsh	لرستان Lorestan	234	ترش پوست قرمز طارم Torsh Poost Ghermeze Tarom	زنجان Zanjan
225	سوز پوست کلفت شی نشائ ترش Sooze Poost Koloef Shi Nesha Torsh	لرستان Lorestan	235	وحشی جنگلی رودسر ترش Vahshi Jangali Roodsar Torsh	گیلان Guilan
226	ترش پوست سفید خرم آباد Torsh Poost Sefid Khoram Abad	لرستان Lorestan	236	وحشی ترش لوشان Vahshi Torsh Loshan	گیلان Guilan
227	قمی پوست نازک ترش Ghomi Poost Nazok Torsh	لرستان Lorestan	237	جنگلی پوست قرمز رودبار ترش Jangali Post Ghermez Rodbar Torsh	گیلان Guilan
228	سوز لری شی نشائ ترش Sooze Lori Shi Nesha Torsh	لرستان Lorestan	238	کوهی دانه قرمز رودبار ترش Kohi Daneh Ghermeze Rodbare Torsh	گیلان Guilan
229	خودرو وحشی خرم آباد ترش KHordo Vahshi Khoram Abad Torsh	لرستان Lorestan			

شکل مشاهده شد. تعداد ۲ تا ۸ آلل با میانگین ۳/۷ آلل برای هر آغازگر، در آغازگرهای مورد استفاده مشاهده شد. بیشترین تعداد آلل به آغازگر MP26 با ۸ آلل چندشکل و کمترین تعداد آلل‌ها به آغازگر MP39 با ۲ آلل چندشکل تعلق داشت. دامنه اندازه قطعات تکثیر شده PCR با استفاده از ۷ نشانگر متفاوت بود. طول قطعات تکثیر شده در دامنه بسیار نزدیکی از هم قرار داشتند. اندازه کوچک‌ترین قطعات مربوط به آغازگر MP26 با طول آلل ۱۶۰-۱۴۵جفت باز و بزرگ‌ترین قطعه مربوط به جایگاه MP51 با طول آلل ۳۳۰-۳۰۰ جفت باز بود. سایر آغازگرها، قطعاتی را تکثیر کردند که اندازه آن‌ها در دامنه‌ای بین آغازگرهای MP26 و MP51 قرار داشت. نشانگرهای MP51 و MP26 به ترتیب با ۵ و ۸ آلل بیشترین مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) معادل ۰/۹۰۷ و ۰/۸۹۰ و نشانگر MP39 با ۲ آلل چند شکل کمترین محتوای اطلاعات چندشکلی معادل ۰/۵۴۴ را دارا هستند. با توجه به نتایج به دست آمده، می‌توان گفت که، نشانگرهای MP51 و MP26 با بیشترین محتوای

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مشخصات نشانگر های ریزماهواره مورد استفاده

Table 2. Characteristics of used microsatellite markers

نام آغازگر Name of primer	جایگاه تکرار Repeat motif	دمای اتصال Ta(°C)
ABRII-MP07	$(AT)_9$ $(GT)_8$	55
ABRII-MP12	$(CA)_{11}$	55
ABRII-MP26	(AG)26	50
ABRII-MP28	$(GAGG)_3(GA)_{19}$	55
ABRII-MP30	$(CT)_{15}$	55
ABRII-MP39	$(GA)_8$	55
ABRII-MP42	$(GA)_9$	55
ABRII-MP51	$(GA)_{19}$	55

جدول ۳- اطلاعات به دست آمده از آغازگرها

Table 3. Produced information by primers

نام آغازگر Name of primer	توالی آغازگر Primer sequences	تعداد آلل Number of allel	اندازه آلل Size of allel	PIC	H
MP07	F:5-GATTAACAGCAAAGCCTAGAGG-3 R:5-AGTAGCTGCAACAAGATAAGG-3	4	190-180	0.807	0.828
MP12	F:5-TTGAGTCCCGATCATATCTC-3 R:5-TCAATCTGTCAGGAACAACA-3	4	240-270	0.840	0.856
MP26	F:5-TTTCTCGAAGAATTGGGTAA-3 R:5-CTGAGTAAGCTGAGGCTGAT-3	8	160-145	0.890	0.895
MP30	F:5-CCCAGTTTGTAGCAAGGTA-3 R:5-AAGCTGACATTCTTTGAAGC-3	3	190-160	0.699	0.739
MP39	F:5-AGTCTCTGAAGTTTGTCGGA-3 R:5-CCTGAGTAAAGCATCTCACTG-3	2	305-250	0.544	0.612
MP42	F:5-GAGCAGAGCAATTCAATCTC-3 R:5-AACAATTTCCCATGTTTGAC-3	3	220-200	0.746	0.780
MP51	F:5-TCTGTCTTTGTGTTCGTGAG-3 R:5-CCCTGTTCTTCTTCTTCCTT-3	5	330-300	0.907	0.913

PIC: Polymorphic Information Content
H: Hetrozygosity

اطلاعات چندشکلی، بیشترین شاخص چندشکلی را نشان دادند، در نتیجه این دو نشانگر بهتر از سایر نشانگرهای استفاده شده، می‌توانند فاصله ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های انار را مشخص کنند. بالاترین میزان ناخالصی (H) در آغازگرهای MP26 و MP51 به ترتیب ۰/۸۹۵ و۰/۹۱۳ و کمترین مقدار آن برای آغازگر MP39، ۰/۶۱۲، بود. به نظر می‌رسد که بین تعداد آلل، محتوای اطلاعات چندشکلی و میزان ناخالصی رابطه مستقیمی وجود دارد و

Archive of SID

www.SID.ir

با افزایش تعداد آلل، میزان محتوای اطلاعات چندشکلی و ناخالصی نیز بزرگ‌تر می‌شود.

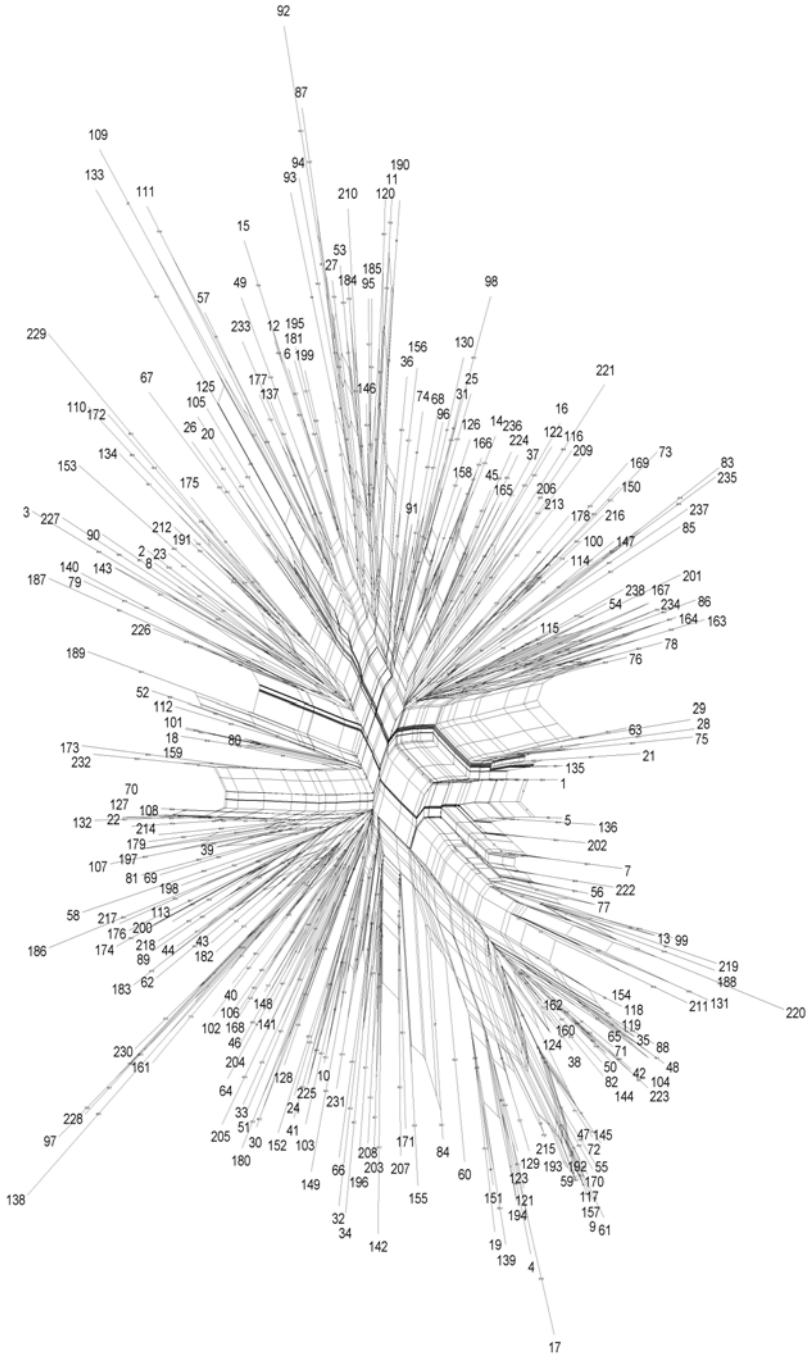
به منظورتعیین اعتبار دندروگرام‌های رسم شده از روش Bootstrap با ۱۰۰۰ تکرار استفاده شد. از ماتریس عدم تشابه ژنتیکی بر اساس ضریب آلل‌های مشترک و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic) استفاده شد. ضریب همبستگی کوفنتیک مربوط به دندروگرام به دست آمده با این روش، ۰/۵۵۹ بود. با وجودی که همبستگی کوفنتیک این دندروگرام حدود ۰/۵۵ بود، که مقدار بالایی نیست ولی با توجه به معنی‌دار بودن در سطح ۱٪ و جداسازی قابل توجیه ژنوتیپ‌ها، این دندروگرام انتخاب شد. رینکون و همکاران (Rincon, 1996) در تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های مولکولی نشان دادند که به طور کلی ضریب کوفنتیک پایین, دلیل بر عدم کارآیی نمودار حاصل نمی‌تواند باشد، بلکه ضریب همبستگی کوفنتیک پایین ممکن است به دلیل شرایط غیر عادی در داده‌ها به خصوص داده‌های مولکولی باشد.

بر اساس تجزیه خوشه‌ای به روش Bootstrap ، تمامی نمونه‌ها در شش گروه اصلی قرار گرفتند (شکل ۱). گروه اول شامل نه ژنوتیپ بودکه مربوط به استان‌های مختلف هستند. گروه دوم شامل نوزده ژنوتیپ مربوط به استان‌های لرستان، کردستان، یزد، فارس، مازندران و کرمان بود با بررسی دندروگرام، مشاهده می‌شود که در این گروه دو ژنوتیپ ترش پوست سفید ایلام و ترش پوست سفید لرستان وجود داشت. تشابه اسمی این نمونه‌ها و همچنین همجواری این دو استان، نشان‌دهنده این است که احتمالاً منشاء این دو ژنوتیپ مشابه بوده و با انتقال از یک منطقه به منطقه دیگر در فهرست ژنوتیپ‌های آن استان نیز قرار گرفته است. گروه سوم بیشترین تعداد ژنوتیپ‌ها را شامل می‌شد که شامل کلیه مناطق جغرافیایی بود و ارتباط خاصی بین قرارگیری ژنوتیپ‌ها بر مبنای تقسیم‌بندی استانی و یا نمونه‌های با نام‌گذاری مشابه در کنار یک دیگر وجود نداشته و نمونه‌ها به طور مستقل از این عوامل طبقه‌بندی شده‌اند. گروه چهارم شامل بیست و یک ژنوتیپ است بیشر آن‌ها مربوط به استان‌های مرکزی کشور بودند.گروه پنجم شامل چهل و دو ژنوتیپ است که اکثر ژنوتیپ‌های این گروه مربوط به استان‌های مرکزی و شرقی و جنوب شرقی ایران بودند و بیش از پنجاه درصد از ژنوتیپ‌های استان سیستان و بلوچستان در این گروه قرار گرفتند. گروه ششم بعد از گروه سوم شامل بیشترین ژنوتیپ‌ها بود که ارتباط خاصی بین ژنوتیپ‌های آن‌ها مشاهده نمی‌شد.

با بررسی دندروگرام رسم شده با روش UPGMA (شکل ۲) و نتایج حاصل از آن نیز، می‌توان دریافت که گروه‌بندی دقیقی از نظر تفاوت توزیع جغرافیایی نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود که این امر می‌تواند ناشی از عدم دقت در نحوه نمونه‌برداری و تشکیل کلکسیون اولیه

Archive of SID

www.SID.ir



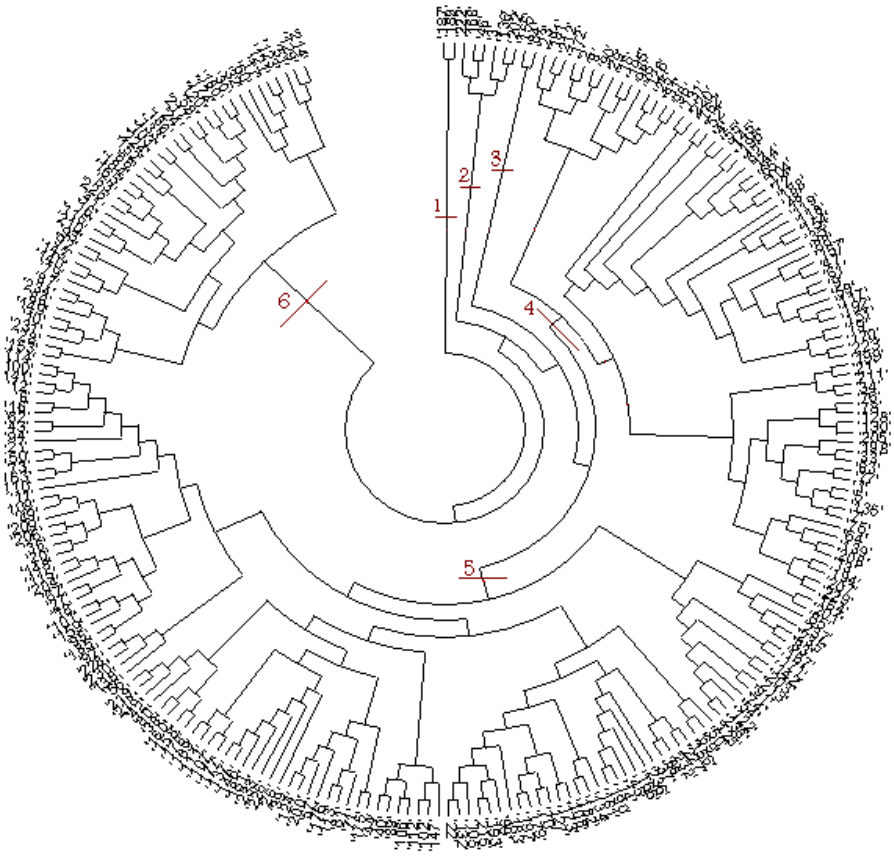
شکل ۱- گروه‌بندی ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران با استفاده از نشانگر ریزماهواره بر اساس الگوریتم Bootstrap

Fig. 1. Grouping of 238 Iranian sour pomegranate genotype using microsatellite markers according to Bootstrap algorithm

اعداد داخل شکل شماره ژنوتیپ‌ها هستند (به جدول ۱ مراجعه شود).

Numbers inside the figure are genotypes number (see Table 1).

www.SID.ir



شکل ۲- گروه‌بندی ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران با استفاده از نشانگر ریزماهواره بر اساس الگوریتم UPGMA

Fig. 2. Grouping of 238 Iranian sour pomegranate genotype using microsatellite markers according to UPGMA algorithm

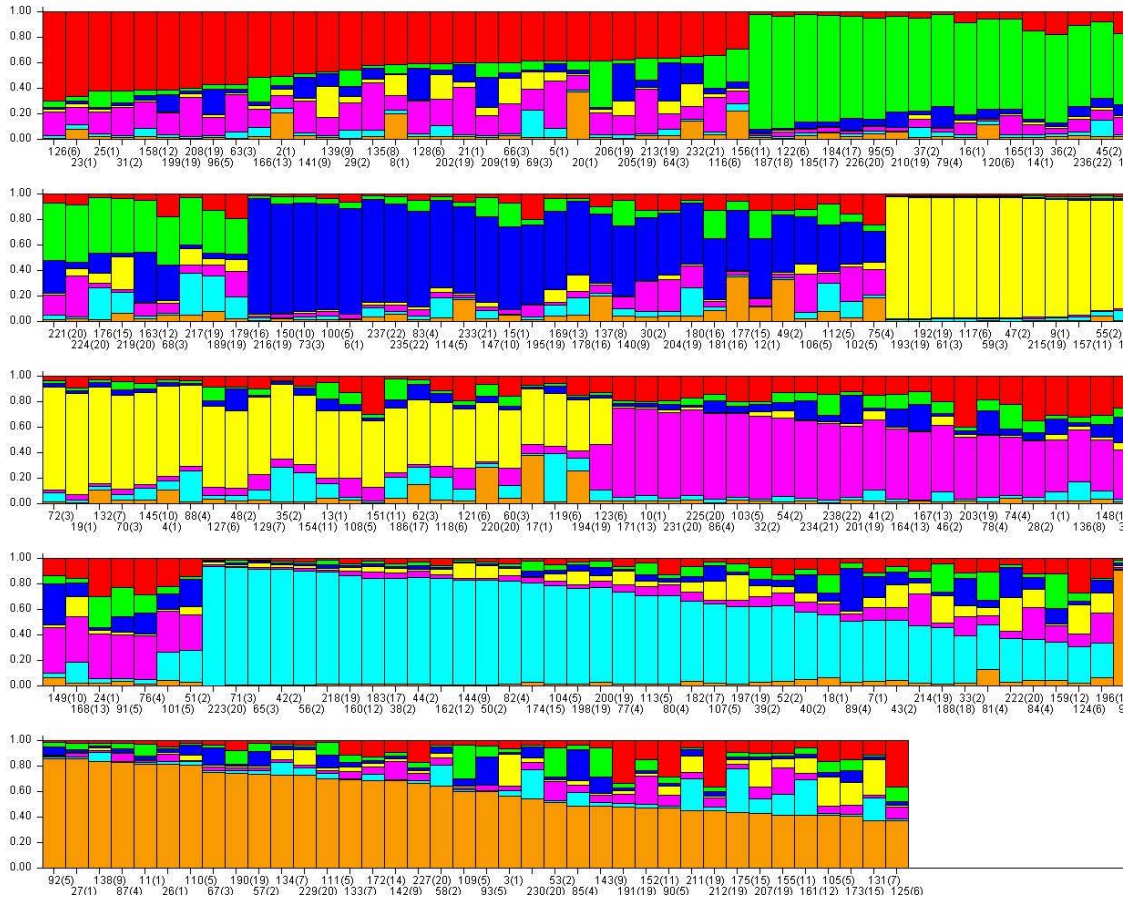
باشد. البته در مواردی نیز ارقام و ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از یک استان در یک گروه مشترک قرار گرفته‌اند و یا گاهاً نمونه‌هایی با خصوصیات مشابه جمع‌آوری شده از استان‌ها یا شهرهای مختلف، در یک گروه واقع شده‌اند.

در سال ۲۰۰۰ توسط پریچارد و همکاران (Pritchard *et al.*, 2000) بحث‌هایی در مورد برخی محدودیت‌های موجود در روش‌های خوشه‌بندی بر مبنای فاصله، مطرح و روش خوشه‌بندی بر مبنای مدل، بر اساس شاخص آماری Bayesian، در تفسیر ساختار جمعیت پیشنهاد شد. بدین ترتیب، به کمک این روش، حتی با استفاده از تعداد اندکی نشانگرهای غیر پیوسته نیز، تجزیه موثر ساختار جمعیت و دسته‌بندی دقیق افراد به جمعیت‌های مناسب و تشخیص افراد مختلط امکان‌پذیر می‌شود. در این تحقیق، ارزیابی ساختار جمعیت‌ها به کمک نرم‌افزار Structure انجام شد و نمونه‌ها، به هفت

www.SID.ir

جمعیت اختصاص یافتند که هیچ یک از آن‌ها بر مبنای استان‌هایی که این نمونه‌ها از آن‌جا منشا گرفته یا جمع‌آوری شده بودند، به طور کامل از هم تفکیک نشدند (شکل‌های ۳ و ۴).

اختلاط شدید موجود در بین نمونه‌ها در شکل ۳ به خوبی نمایان است. اختلاط شدید مشاهده شده در این ژرم‌پلاسم، بر مخلوط بودن تبار نمونه‌های مورد مطالعه صحه می‌گذارد. یعنی هر فرد ممکن است بخش‌هایی از ژنوم خود را از تبار خود در جمعیت K، به ارث برده باشد. همچنین احتمالاً فراوانی آللی نیز در جمعیت‌های مختلف به علت مهاجرت و یا تبار مشترک، همبستگی دارد.

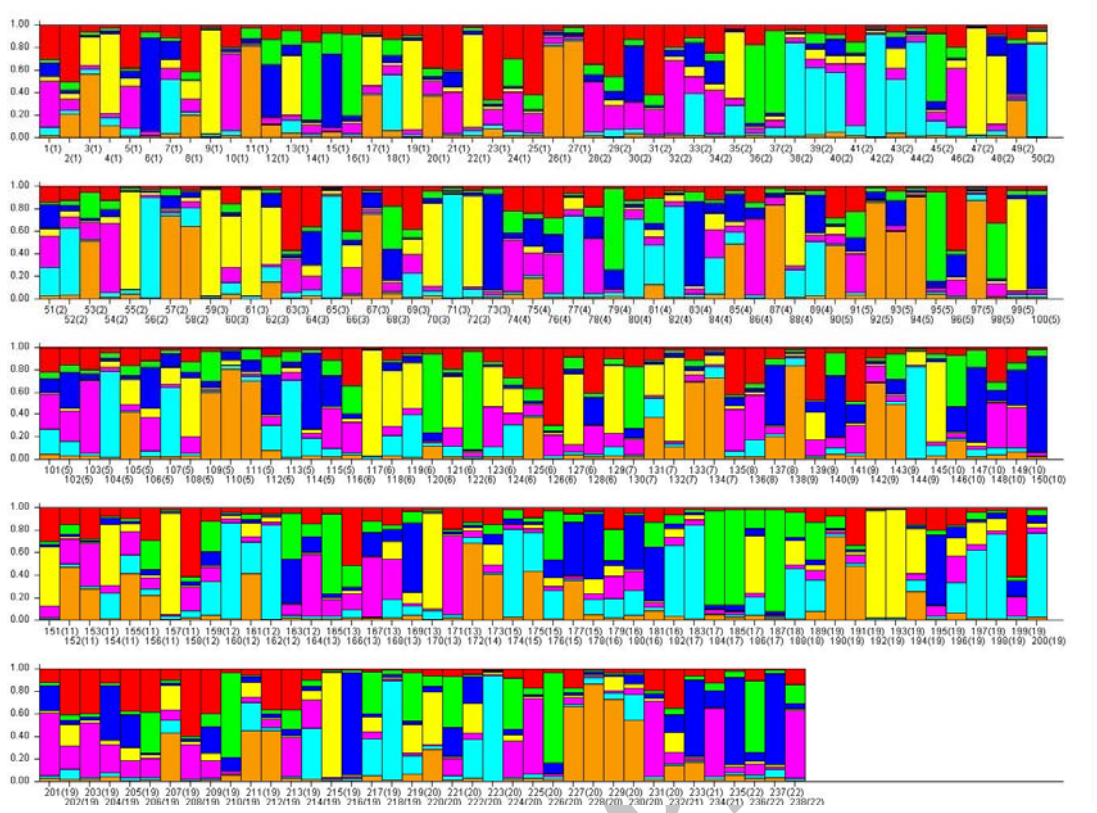


شکل ۳- دسته‌بندی ژرم‌پلاسم انار بر اساس نرم‌افزار Structure

Fig. 3. Clastring of pomegranate germplasm using structure software

به طور کلی نتایج به دست آمده از تجزیه‌های آماری به روش‌های مختلف نسبتاً مشابه بوده و به نظر می‌رسد عدم مطابقت بین نواحی جغرافیایی نمونه‌ها، نام‌گذاری و خصوصیات ژنتیکی آن‌ها از خصوصیات ژرم‌پلاسم‌های انار موجود باشد. تجزیه

www.SID.ir



شکل ۴- نقشه Q برای ژنوتیپ های انار بر اساس نرم افزار Structure
Fig. 4. Map of Q for pomegranate genotype using structure software

و تحلیل ژرم‌پلاسم انار تونس که بر پایه خصوصیات میوه توسط مارس و مراکچی (Mars and Marrakchi, 1999) انجام شده بود، نشان داد که منشا جغرافیایی ارقام، معیاری جهت تعیین گروه‌بندی آن‌ها به شمار نمی‌رود. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر (Jbir *et al*., 2008) که با استفاده از نشانگرهای AFLP و بر روی ژنوتیپ‌های تونس انجام شد، گزارش شد که دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها مستقل از منشا جغرافیایی‌شان بوده است.

مطالعه حاضر نیز نشان داد که نمونه‌های انار ترش ژرم‌پلاسم موجود، بر اساس مکان‌ها و یا نام‌گذاری‌های مشابه تفکیک نمی‌شوند، زیرا ممکن است بر اساس نسب به یک دیگر مرتبط نباشند. از آن‌جایی که منشاء دقیق این گیاهان شناخته شده نیست، این احتمال وجود دارد که انارهایی که در یک منطقه جغرافیایی وجود دارند، در اصل از مکان دیگری منشا گرفته و با نام جدیدی در مقصد کشت شده باشند. این نتایج ناشی از جابه جایی ژنوتیپ‌ها از منطقه اصلی به سایر بخش‌های کشور و عمدتاً بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و بوده که این امر لزوم دقت در زمان نام‌گذاری نمونه‌ها و همچنین لزوم استفاده همزمان از اطلاعات

Archive of SID
www.SID.ir

مولکولی و مورفولوژیکی را در احداث کلکسیون آشکار می‌سازد زیرا برخی از جهش‌ها و تغییرات ژنتیکی در خصوصیاتی نظیر رنگ میوه، شکل، اندازه درخت رخ می‌دهند که از نظر فنوتیپی به راحتی قابل شناسایی هستند، اما با استفاده از برخی نشانگرهای مولکولی قابل تشخیص نیستند. همچنین باید توجه شود که تاثیر بعد از نسخه‌برداری و توارث غیرهسته‌ای نیز می‌تواند دلیل عدم تناسب نشانگرهای مولکولی و خصوصیات مورفولوژیکی باشد. بنابراین انجام مطالعات مورفولوژیکی دقیق و یا مطالعه صفات فنولوژیکی برگ، گل و میوه می‌تواند در حصول نتایج قابل اعتمادتر در ژنوتیپ‌های انار مثمر ثمر باشد.

علت دیگر عدم تفکیک دقیق نمونه‌ها، ممکن است به ماهیت نشانگرهای مورد استفاده مربوط باشد، زیرا چندشکلی بالای حاصل از نشانگرهای ریزماهواره، تفاوت‌ها را به شکل فاحشی نشان داده و در نتیجه در یک ژرم‌پلاسم بزرگ قادر به دسته‌بندی دقیقی نیست. پیشنهاد می‌شود که برای تفکیک دقیق‌تر این ژرم‌پلاسم از نشانگرهایی با چندشکلی پائین‌تر استفاده شود. از طرفی ممکن است با افزایش تعداد نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده به تفکیک بهتری در ژرم‌پلاسم مورد مطالعه دست یافت که این امر مستلزم طراحی آغازگرهای ریزماهواره جدید است. علاوه بر این، از آن‌جایی که آغازگرهای ریزماهواره از نواحی غیرکدکننده نیز جداسازی شده‌اند، و خصوصیات مورفولوژیکی، حاصل توالی‌های بیان شونده و برهم‌کنش آنها است، در نتیجه قسمت‌هایی از ژنوم که به وسیله این آغازگرها تکثیر می‌شوند، احتمالا در ژن‌های کدکننده خصوصیات مورفولوژیکی قرار نداشته و بنابراین استفاده از آغازگرهای EST که بر پایه نواحی کدشونده طراحی شده‌اند، پیشنهاد می‌شود.

References

Akrami, M. R., Tabatabaei, S. Z. A., and Mireskandari, S. E. 2004. Investigation of the most important properties of pomegranate cultivars deposited in Saveh collection. Abstracts of the 2nd National Congress and Festival of Pomegranate, Neiriz, Fars, Iran (in Persian).

Awamleh, H., Hassawi, D., Migdadi, H., and Brake, M. 2009. Molecular characterization of pomegranate landraces grown in Jordan using amplified fragment length polymorphism markers. Biotechnology 8(3):316-322.

Archive of SID
www.SID.ir

Behzadi Shahrbabaki, H. 1998. Genetic Diversity of Pomegranate Genotypes in Iran. Nashr Amoozesh Keshavarzi, Tehran, Iran. 256 pp. (in Persian).

Butlin, R. K., and Tregenza, T. 1998. Levels of genetic polymorphism: marker loci versus quantitative traits. Phil. Trans. R. Soc. Lond. 355:187- 198.

Dellaporta, S. L., Wood, J., and Hicks, J. B. 1983. A plant mi preparation: version II. Plant Plant Molecular Biology 1: 19-21.

Jbir, R., Hasnaoui, N., and Mars, M. 2008. Characterization of Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars using amplified fragment length polymorphism analysis. Scientia Horticulturae 115: 231–237.

Karp, A., Edwards, K. J., Bruford, M., Funk, S., Vosman, B., Morgante, M., Seberg, O., Kremer, A., Boursot, P., Arctander, P., Tautz, D., and Hewitt, G. M. 1997. Molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. Nature Biotechnology 15: 625-628.

Mars, M., and Marrakchi, M. 1999. Diversity of pomegranate (*Punica granatum* L.) germplasm in Tunisia. Genetic Resources and Crop Evolution 46: 461-467.

Murry, H. G., and Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Research 8: 4321-4325.

Pirseyedi, S. M., Valizadegan, S., Mardi, M., Ghaffari, M., Mahmoodi, P., Zeinalabedini, M., and Khayam, S. M. 2010. Isolation and characterization of novel microsatellite. International Journal of Molecular Science 11: 2010-2016.

Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945–959.

Rahimi. T., Sayed Tabatabaei, B. E., Sharifnabi, B., and Ghobadi, C. 2006. Genetic relationships between Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars, using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Marker. Iranian Journal of Agricultural Sciences 36: 373-379 (in Persian).

Rechinger, K. H. 1966. Flora Iranica, Vol. 22. Graz, Akademische Druk-vnd Verlaysansalt, Austria.

Rincon, F., Johnson, B., Crossa, J., and Taba, S. 1996. Cluster analysis, an approach to sampling variability in maize accessions. Maydica 41: 307–316.

Archive of SID

www.SID.ir

Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., and Ebadi, A. 2006. RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) lanraces. Scientia Horticulturae 111: 24-29.

Stover, E. and Mercure, E. W. 2007. The pomegranate a new look at the fruit of paradise. HortScience 42: 1088-1092.

Vesvaei, A. 1988. History of Botanical, Ecological and Geographical Spread of Pomegranate in Iran, Study of Pomegranate in Iran. University of Tehran Jahad-e-Daneshgahi Press. Tehran, Iran (in Persian).

Zamani, Z., Sarkhosh, A., Fatahi, R., and Ebadi, A. 2007. Genetic relationships among pomegranate genotypes studied by fruit characteristics and rapid markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 11-18.

Zane, L., Bargelloni, L., and Patarnello, T. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. Molecular Ecology 11: 1-16.

Archive of SID

www.SID.ir