

Genetic Relationships of *Pistacia* Species and Cultivars by SCoT Markers

Mohsen Saadlou Parizi

Ph.D. Student, Department of plant genetics and production engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. email: saadluoparizi@gmail.com

Sodabeh Jahanbaksh Godehkahriz

*Corresponding Author. Professor, Department of plant genetics and production engineering, Faculty of agriculture and natural resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. email : jahanbakhsh@uma.ac.ir

Hosein Dashti

Professor, Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture, Valiasr University, Rafsanjan, Rafsanjan, Iran. email: dashti@vru.ac.ir

Roohallah Saberi Riseh

Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Valiasr University, Rafsanjan, Rafsanjan, Iran. email: r.saberi@vru.ac.ir

Hojjat Hashemi Nasab

Research Assistant Professor, Pistachio Research Center, Horticultural sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran. email: hojathashemi@gmail.com

Abstract

Objective

Pistachio is one of the most important agricultural products and Iran has the richest germplasm of pistachio in the world. The presence of these genetic resources will be an appropriate opportunity for use in breeding purposes. Knowledge of genetic relationships among pistachio genotypes has an important role in its breeding programs. Molecular markers are one of the powerful tools for studying plant phylogenetic relationships. Start Codon Targeted (SCoT) technique is one of the molecular systems that is used to assess the genetic relationship among different plant species and cultivars. This study was performed in order to evaluate the genetic relationships between a number of *Pistacia* species and cultivars using SCoT molecular markers and to assess the usefulness of these markers in differentiating this genus.

Materials and methods

Plant materials of this study are included 29 genotypes of domestic and wild species of genus *Pistacia*. A total of 25 SCoT primers were used to evaluate the genetic relationships. Genomic

DNA were extracted from leaf samples using CTAB method with minor modifications. The quantity and quality of the extracted DNA were measured by spectrophotometer and agarose gel electrophoresis. Cluster analysis based on Jaccard's similarity matrix and complete linkage algorithm and Principal coordinate analysis were performed using NTSYSpc 2.02e software.

Results

In total, 449 DNA fragments were amplified by primers out of which 433 bands (96/43%) were polymorphic. The average number of amplified fragments for each primer was 17.96 bands with a mean of 17.32 polymorphic bands per primer. A number of species-specific marker were detected in some Genotypes. The average of polymorphism information content values varied from 0/18 to 0/38. Also, the values of marker indices ranged from 0/56 to 4/36. The range of similarity coefficients of genotypes varied between 25% to 68%. Cluster analysis divided Genotypes into two main cluster including *vera* (domestic) and wild species. Principal coordinate analysis separated *vera* cultivars and genotypes from wild species and confirmed the results of cluster analysis.

Conclusions

The results of this study demonstrated that SCoT molecular markers detected high polymorphism among pistachio species and cultivars and differentiated the studied genotypes. Therefore, SCoT Marker is a useful tool for studying phylogenetic relationships in genus *Pistacia*.

Keywords: Cluster analysis, Phylogenetic, Pistachio, Molecular Marker, SCoT Marker.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Saadlou Parizi M, Jahanbaksh Godehkahriz S, Dashti H, Saberi Riseh R, Hashemi Nasab H (2022) Genetic Relationships of Pistacia Species and Cultivars by SCoT Markers. *Agricultural Biotechnology Journal* 14 (4), 1-20.

Agricultural Biotechnology Journal 14 (4), 1-20.

DOI: 10.22103/jab.2022.18817.1374

Received: June 21, 2022.

Received in revised form: July 29, 2022.

Accepted: July 30, 2022.

Published online: November 15, 2022

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant




Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

روابط ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام جنس پسته (*Pistacia L.*) به وسیله نشانگر SCoT

محسن سعدلو پاریزی


دانشجوی دکتری گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
رایانامه: saadluoparizi@gmail.com

 سدابه جهانبخش

*نویسنده مسئول: استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: jahanbakhsh@uma.ac.ir

 حسین دشتی

استاد، گروه ژنتیک و تولید گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان- ایران. رایانامه: dashti@vru.ac.ir

 روح اله صابری ریسه

استاد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان- ایران. رایانامه: r.saberi@vru.ac.ir

حجت هاشمی نسب

استادیار پژوهشی، پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران.
رایانامه: hojathashemi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۳۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۱/۰۵/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۸

چکیده

هدف: پسته یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی می‌باشد و کشور ایران دارای غنی‌ترین ژرمپلاسم پسته دنیاست. وجود این ذخایر ژنتیکی فرصتی مناسب جهت استفاده برای اهداف اصلاحی خواهد بود. آگاهی از روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های پسته نقش مهمی در برنامه‌های اصلاحی آن دارد. نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای قدرتمند جهت بررسی روابط فیلوژنتیک گیاهان می‌باشند. تکنیک SCoT یکی از سیستم‌های مولکولی است که جهت بررسی ارتباط ژنتیکی گونه‌ها و ارقام مختلف گیاهی کاربرد دارد. این مطالعه به منظور ارزیابی روابط ژنتیکی تعدادی از گونه‌ها و ارقام جنس پسته با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT و بررسی سودمندی این نشانگر در تمایز ژنوتیپ‌های این جنس انجام شد.

مواد و روش‌ها: مواد گیاهی این مطالعه شامل ۲۹ ژنوتیپ از گونه‌های اهلی و وحشی جنس پسته است. ۲۵ آغازگر از نشانگر SCoT جهت ارزیابی روابط ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفت. DNA ژنومی از نمونه‌های برگ با استفاده از روش CTAB با اندکی تغییر استخراج گردید. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به وسیله اسپکتروفتومتر و الکتروفورز ژل آگاروز تعیین گردید. تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس تشابه ژاکارد و الگوریتم اتصال کامل و تجزیه به مؤلفه‌های هماهنگ اصلی، با استفاده از نرم‌افزار 2.02e NTSYSpc انجام شدند.

نتایج: در مجموع ۴۴۹ قطعه DNA توسط آغازگرها تکثیر گردید که ۴۳۳ باند (۹۶/۴۳ درصد) چندشکل بودند. متوسط تعداد قطعات تکثیری برای هر آغازگر ۱۷/۹۶ باند با میانگین ۱۷/۳۲ باند چندشکل در هر آغازگر بود. تعدادی نشانگر اختصاصی گونه نیز در بعضی ژنوتیپ‌ها آشکار گردید. مقادیر میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۱۸ تا ۰/۳۸ متغیر بود. همچنین مقادیر شاخص نشانگری در محدوده ۰/۵۶ تا ۴/۳۶ قرار داشت. دامنه ضرایب تشابه ژنو تیپ‌ها بین ۲۵ تا ۶۸ درصد متغیر بود. تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های پسته را به دو شاخه اصلی شامل گونه ورا (اهلی) و گونه‌های وحشی تقسیم نمود. تجزیه به مؤلفه‌های هماهنگ اصلی، گونه ورا را از گونه‌های وحشی تفکیک و نتایج تجزیه خوشه‌ای را تأیید نمود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که نشانگر مولکولی SCoT چندشکلی بالایی را در بین گونه‌ها و ارقام پسته آشکار و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را از یکدیگر متمایز ساخت. بنابراین، نشانگر SCoT ابزاری سودمند جهت مطالعه روابط فیلوژنتیک در جنس پسته است.

کلیدواژه‌ها: پسته، تجزیه خوشه‌ای، فیلوژنتیک، نشانگرهای مولکولی، نشانگر SCoT.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: سعدلو پاریزی محسن، جهانبخش سدابه، دشتی حسین، صابری ریشه روح اله، هاشمی نسب حجت (۱۴۰۱) روابط ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام جنس پسته (*Pistacia L.*) به‌وسیله نشانگر SCoT. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۴(۴)، ۲۰-۱.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant

Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian

Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

جنس پسته (*Pistacia L.*) متعلق به تیره پسته‌سانان (Anacardiaceae) است و این جنس دارای حداقل ۱۱ گونه مختلف می‌باشد (Zohary 1952; Guney et al. 2021). از بین گونه‌های این جنس، فقط گونه ورا (اهلی) به‌صورت تجاری و

برای مصارف خوراکی کشت می‌گردد، سایر گونه‌های آن وحشی بوده و اکثراً به عنوان پایه برای پسته اهلی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Karimi & Kafkas 2011). پسته (*Pistacia vera* L.) یکی از مهم‌ترین تولیدات کشاورزی و محصولات صادراتی ایران است. کشور ایران یکی از مهم‌ترین رویشگاه‌ها و مراکز تنوع ژنتیکی گونه‌های پسته در دنیاست و دارای غنی‌ترین ژرمپلاسم پسته می‌باشد. شناسایی دقیق و ارزیابی گونه‌ها و ارقام پسته جهت استفاده در برنامه‌های به‌نژادی ارقام و پایه‌های پسته، اهمیت زیادی دارد. کشت و کار پسته در ایران با چالش‌هایی روبروست که ممکن است در آینده گسترده‌تر شوند. از جمله این چالش‌ها، آسیب‌پذیری به دلیل تغییرات اقلیمی از قبیل خشک‌سالی و افزایش شوری خاک و نیز فرسایش ژنتیکی این محصول است (Michel 2017). لذا شناسایی، حفاظت و استفاده از ژرمپلاسم پسته می‌تواند اهمیت زیادی در رفع چالش‌های موجود داشته باشد.

مطالعات انجام‌شده در زمینه‌ی روابط ژنتیکی گونه‌ها و ارقام پسته نشان می‌دهد که گونه‌های پسته به دلیل دوپایه بودن و نحوه گرده‌افشانی، تلاقی پذیری بین گونه‌ای و هتروزیگوسیتی بالا، دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند. وجود ذخایر ژنتیکی غنی پسته در کشور ایران و ژنوتیپ‌های وحشی که منابع غنی از ژن‌ها به شمار می‌روند، فرصت مناسبی جهت اجرای برنامه‌های اصلاحی و معرفی ارقام جدید محسوب می‌شوند (Karimi 2010; He et al. 2015). آگاهی از روابط ژنتیکی ذخایر ژنی گیاهان در برنامه‌های اصلاحی نقش اساسی دارد (Dempewolf et al. 2017). نشانگرهای مولکولی می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی به منظور ارزیابی ژرمپلاسم گیاهی مورد استفاده قرار گیرند (Yang et al. 2015). در دهه‌های اخیر مطالعات فیلوژنی جنس پسته در کشورهای مختلف به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیک بین گونه‌ها و ارقام مختلف پسته با استفاده از نشانگرهای مولکولی صورت گرفته است. روابط درون‌گونه‌ای در نه گونه از جنس پسته به‌وسیله نشانگر RAPD بررسی گردید و آن‌ها را به دو گروه اصلی درختچه‌ها و درختان بزرگ تقسیم‌بندی نمود (Kafkas et al. 2002). ارتباط ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام پسته موجود در کشور یونان به‌وسیله نشانگرهای AFLP و RAPD بررسی شد و آن‌ها را به دو گروه همیشه‌سبز و خزان‌پذیر تفکیک نمود (Katsiotis et al. 2003). در مطالعه مشابهی نیز از نشانگرهای مولکولی AFLP و RAPD برای مطالعه تنوع ژنتیکی و روابط بین گونه‌های پسته ناحیه مدیترانه استفاده شد و نتایج مشابهی حاصل گردید و گونه‌های همیشه‌سبز را از گونه‌های خزان‌پذیر تفکیک نمود (Golan-Goldhirsh et al. 2004). روابط فیلوژنتیک در ژنوتیپ‌های متعلق به گونه‌های مختلف جنس پسته موجود در ترکیه به‌وسیله نشانگر AFLP مورد ارزیابی قرار گرفت و به تشخیص و گروه‌بندی آن‌ها کمک نمود (Kafkas 2006). همچنین روابط ژنتیکی بین تعدادی از گونه‌های پسته موجود در کشور سوریه از طریق نشانگرهای RAPD و ISSR مورد بررسی قرار گرفت و آن‌ها را به دو گروه اصلی متمایز نمود (Mais et al. 2014). این مطالعات به شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌ها و زیرگونه‌های مختلف جنس پسته کمک کرده است. مطالعات متعددی نیز در زمینه ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط موجود در بین گونه‌ها و ارقام مختلف پسته در کشور ایران به‌وسیله نشانگرهای مولکولی انجام شده است (Baghizadeh et al. 2010; Ghaemmaghami et al. 2013; Talebi et al. 2016; Pourian et al. 2019; Zarei & Erfani-Moghadam 2021). نتایج حاکی از وجود تنوع ژنتیکی بالا در ژرمپلاسم پسته ایران و پیچیدگی خاص در روابط فیلوژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف آن می‌باشد.

اخیراً یک سیستم نشانگر مولکولی به نام نشانگر Start Codon Targeted (SCoT) برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان معرفی شده و مورد استفاده قرار گرفته است (Collard & Mackill 2009). این نشانگر بر اساس نواحی حفاظت شده اطراف نقطه شروع رونویسی ژن‌ها طراحی شده و نیازمند اطلاع قبلی از توالی ژنوم مورد مطالعه نیست. این سیستم با کاربرد آسان و کارایی بالا، قابل اعتماد و تکرارپذیر بوده و برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی و آگاهی از روابط ژنتیکی گیاهان مفید می‌باشد (Sankhla et al. 2015). نشانگر SCoT می‌تواند با عملکرد ژن‌ها مرتبط باشد و ممکن است تعداد بیشتری از نشانگرهای عملکردی را ایجاد کند که به‌طور مستقیم با ژن‌های عملکردی و صفات متناظر آن‌ها در ارتباط باشند (Luo et al. 2014; Wu et al. 2013). سودمندی این نشانگر در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی و انگشت‌نگاری تعدادی از گیاهان به منظور شناسایی گونه‌ها و ارقام نشان داده شده است (Ibrahim et al. 2016; Mahjbi et al. 2015; Gajera et al. 2014). همچنین نشانگر SCoT برخلاف نشانگرهایی مانند (RAPD, AFLP & ISSR)، یک نشانگر هدفمند برای ژن‌هاست و لذا قادر است اطلاعات بیشتری که مرتبط با خصوصیات بیولوژیکی است را در مقایسه با نشانگرهای تصادفی ایجاد کند. همچنین این تکنیک چندشکلی بالا و مؤثری را نشان داده است (Xiong et al. 2011; Xiong et al. 2009). مطالعه تنوع ژنتیکی، روابط فیلوژنتیک و ساختار جمعیت نمونه‌های مختلف سه گونه پسته ایرانی از طریق نشانگر SCoT نشان داد که آغازگرهای مربوطه توان بالایی در تمایز ژنتیکی گونه‌های مورد بررسی را داشتند (Zarei & Erfani-Moghadam 2021). همچنین در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های نر و ماده پسته، نشانگر SCoT جمعیت‌های مورد نظر را به خوبی از یکدیگر تفکیک نمود (Malekzadeh et al. 2018).

ارزیابی روابط ژنتیکی موجود در داخل ارقام اهلی و خویشاوندان وحشی گونه‌های گیاهی نقش مهمی در اصلاح گیاهان دارد. از سویی دیگر، استفاده از تکنیک‌های مولکولی در سال‌های اخیر جهت مطالعه موجودات بومی و حفاظت شده، کاربرد گسترده‌ای یافته است (Mohammadabadi 2017). میزان اطلاعات به دست آمده از این تکنیک‌های ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌های مختلف و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌هاست (Mohammadifar et al. 2014; Mohammadifar & Mohammadabadi 2018). بنابراین، تجزیه و تحلیل ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف پسته به منظور استفاده مؤثر از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی اهمیت خواهد داشت. لذا، این مطالعه به منظور ارزیابی روابط ژنتیکی تعدادی از گونه‌ها و ارقام جنس پسته از طریق نشانگر مولکولی SCoT و بررسی کارایی و سودمندی این نشانگر در تمایز ژنوتیپ‌های مختلف پسته انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این آزمایش شامل ۲۹ ژنوتیپ از گونه‌ها و ارقام مختلف جنس پسته که تعداد ۲۴ عدد از آن‌ها مربوط به گونه ورا (ارقام و ژنوتیپ‌ها) است. همچنین ۵ گونه آتلانتیکا، اینتگریمما، بنه (زیرگونه موتیکا)، هیبرید بنه باغی و هیبرید UCB1 (حاصل

از تلاقی گونه‌های آتلانتیکا و اینتگریمما) نیز مربوط به گونه‌های وحشی هستند. بذور ۲۸ ژنوتیپ فوق از کلکسیون بذری پژوهشکده پسته رفسنجان تهیه و در گلخانه کشت گردید. نهال‌های حاصل از کشت بافت هیبرید UCB1 نیز از شرکت تولید نهال طوبی کرمان تهیه شد (جدول ۱). این آزمایش در گلخانه و آزمایشگاه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان در سال ۱۳۹۹ انجام شد.

جدول ۱. اسامی گونه‌ها، ژنوتیپ‌ها و ارقام پسته مورد استفاده در این مطالعه

Table 1. Names of pistachio species, genotypes and cultivars used in this study

ارقام cultivars	ارقام cultivars	ژنوتیپ‌ها genotypes	گونه‌ها species
قزوینی (1) Ghazvini	احمدآقایی (10) AhmadAghaei	MT1 (18)	UCB1 (25)
جندقی (2) Jandaghi	موسی آبادی (11) MoosaAbadi	BK1 (19)	بنه (26) Mutica
سرخس (3) Sarakhs	کله قوچی (12) Kalehghochi	BK6 (20)	بنه باغی (27) Baneh Baghi
اکبری (4) Akbari	فندق غفوری (13) فندقی Ghafouri	BK7 (21)	آتلانتیکا (28) Atlantica
ایتالیایی (5) Italiaei	FandoghiGhafoori سفیدپسته نوق (14) SefidPestehNough	M4 (22)	اینتگریمما (29) Integerrima
راور ۱ (6) Ravar-1	بادامی زرنند (15) BadamiZarand	M5 (23)	
غلامرضایی (7) Gholamrezaei	سیف‌الدینی (16) Seifoddini	M7 (24)	
ممتاز تاج‌آبادی (8) MomtazTajAbadi	اوحدی (17) Ohadi		
خنجری دامغان (9) KhanjariDamghan			

استخراج DNA: DNA ژنومی از برگ‌های جوان برداشت‌شده، به وسیله روش CTAB^۱ (Doyle & Doyle 1987) با اندکی تغییر (شامل افزودن 2% PVP و 0.1% Na₂S₂O₅ به بافر) استخراج گردید (karimi et al. 2009). کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA استخراج‌شده با روش‌های اسپکتروفتومتری به وسیله Nanodrop 2000c ساخت کشور آمریکا و الکتروفورز ژل آگاروز تعیین شد و هر کدام از نمونه‌ها در غلظت ۲۰ نانوگرم بر میکرولیتر رقیق گردید و در واکنش زنجیره‌های پلیمر از^۲ (PCR) مورد استفاده قرار گرفت.

1. Cetyltrimethyl ammonium bromide

2. Polymerase Chain Reaction

آغازگرهای مورد استفاده: در این آزمایش تعداد ۳۶ آغازگر از نشانگر SCoT (Collard & Mackill 2009) از شرکت Macrogen کشور کره جنوبی تهیه و برای ارزیابی روابط ژنتیکی تعدادی از ژنوتیپ‌های پسته، مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ۲۵ آغازگر تکثیر مناسبی داشتند و بعد از امتیازدهی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تکثیر قطعات DNA به وسیله دستگاه ترموسایکلر BIO RAD مدل C1000^{mm} (ساخت کشور آمریکا) در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل هفت میکرولیتر آب دوبار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر PCR master mix (سینا ژن)، دو میکرولیتر (DNA) و یک میکرولیتر آغازگر با غلظت ۱۰ میکرومولار، انجام شد. برنامه PCR شامل مراحل واسرشته سازی اولیه به مدت سه دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و متعاقب آن تعداد ۳۵ چرخه در دمای ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر به رشته الگو به مدت ۳۰ ثانیه در دمای مناسب برای هر آغازگر (جدول ۲)، مرحله بسط رشته جدید به مدت دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه و در نهایت مرحله بسط نهایی به مدت پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه انجام گردید. محصولات تکثیری به وسیله الکتروفورز با ژل آگاروز تفکیک و با سیستم ژل داگ UVITEC Cambridge (ساخت کشور انگلستان) آشکارسازی گردیدند. تصاویر باندهای تکثیری به صورت یک (حضور باند) و صفر (عدم حضور باند) امتیازدهی شدند. همچنین محتوای اطلاعات چندشکلی^۳ (PIC) و شاخص نشانگری^۴ (MI) برای هر آغازگر محاسبه گردید. با توجه به اینکه SCoT یک نشانگر تصادفی چندمکانی می‌باشد، لذا برای محاسبه مقدار PIC از فرمول $PIC_i = 2fi(1-fi)$ استفاده شد که fi فراوانی باند تکثیرشده در مکان موردنظر است (Mulpuri et al. 2013). شاخص نشانگری (MI) از حاصل ضرب متوسط PIC در تعداد باندهای چندشکل هر آغازگر به دست آمد (Powell et al. 1996). آزمون منتل جهت تشخیص مناسب‌ترین ماتریس تشابه (Mantel 1967)، مورد استفاده قرار گرفت و ضریب ژاکارد انتخاب و شباهت ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها بر اساس آن محاسبه گردید. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های پسته با استفاده از تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس تشابه ژاکارد و با روش اتصال کامل انجام شد. مناسب بودن روش تجزیه خوشه‌ای با توجه به مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک تعیین گردید. تجزیه به مؤلفه‌های هم‌هنگ اصلی^۵ (PCo) نیز به عنوان روش مکمل و جهت بررسی مناسب بودن روش تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های موردنظر، صورت گرفت (Gower 1996). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها به وسیله نرم‌افزار NTSYSpc 2.02e (Rohlf 1998) انجام شد.

نتایج و بحث

چندشکلی و قدرت تمایز نشانگرها: آغازگرهای مورد استفاده در این آزمایش تعداد ۴۴۹ قطعه را تکثیر نمودند که از این تعداد ۴۳۳ باند چند شکل و ۱۶ باند یک‌شکل بودند. تعداد باندهای چند شکل بین ۳ تا ۲۹ باند متغیر بود. متوسط تعداد باندهای

3. Polymorphic Information Content
4. Marker Index
5. Principle coordinate analysis

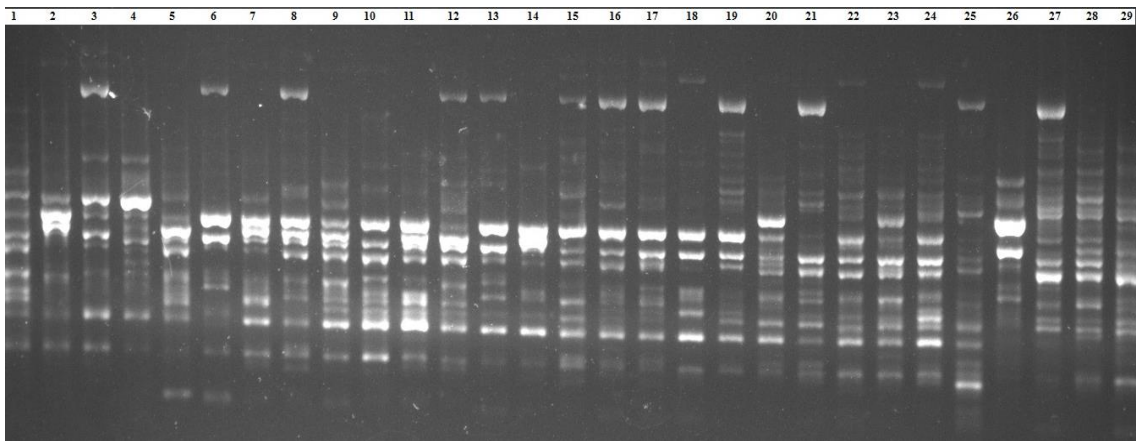
تکثیری و چندشکل برای هر آغازگر به ترتیب برابر با ۱۷/۹۶ و ۱۷/۳۲ باند بود. میزان چندشکلی آشکار شده در این مطالعه بین ۵۰ تا ۱۰۰ درصد متغیر و به طور میانگین ۹۶/۴۳ درصد بود که نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی بالا در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد. در مطالعه مشابهی ۹۸/۴۶ درصد چندشکلی از طریق نشانگر SCoT در سه گونه پسته ایجاد شد (Zarei & Erfani-Moghadam 2021). همچنین در مطالعه روابط ژنتیکی گونه‌های پسته از طریق نشانگر RAPD، چندشکلی موجود ۹۰/۶۸ درصد گزارش گردید (karimi et al. 2012). ارزیابی روابط ژنتیکی بین گونه‌های پسته ایران که به وسیله نشانگر IRAP انجام شد، میزان چندشکلی را ۸۹/۶ درصد نشان داد (Ghaemmaghani et al. 2013). چندشکلی آشکار شده از طریق نشانگر SAMPL در بین گونه‌های مختلف پسته به میزان ۷۰ درصد بود (Karimi & Kafkas 2011). در مطالعه فیلوژنی گونه‌های مختلف جنس پسته موجود در ترکیه که به وسیله نشانگر AFLP انجام شد، ۹۲/۴ درصد چندشکلی مشاهده گردید (Kafkas 2006). همچنین ۷۷/۷۴ درصد چندشکلی توسط نشانگر ISSR بین گونه‌های مختلف جنس پسته موجود در کشور سوریه آشکار شد (Mais et al. 2014). بنابراین نشانگر SCoT از نظر چندشکلی ایجاد شده در مقایسه با دیگر نشانگرها، یک نشانگر قدرتمند محسوب می‌شود. زیرا این نشانگر به سطوح پایین تغییرات ژنتیکی حساس است (Collard & Mackill 2009)، در نتیجه چندشکلی بالاتری را نشان می‌دهد و این تنوع ممکن است مربوط به ژن‌های عملکردی است. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای آغازگرهای مورد استفاده بین ۰/۱۸ تا ۰/۳۸ متغیر و با میانگین ۰/۲۵ بود. همچنین مقادیر شاخص نشانگری (MI) نیز در بازه بین ۰/۵۶ تا ۴/۳۲ و با میانگین ۲/۵۹ بود. مقادیر مربوط به میانگین شاخص‌های فوق در مطالعه گونه‌های پسته از طریق نشانگر SCoT به میزان ۰/۳۸ و ۲/۱۲ گزارش گردید (Zarei & Erfani-Moghadam 2021). بالا بودن مقادیر چندشکلی و شاخص‌های PIC و MI برای آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر، نشان دهنده کارایی بالای آن‌ها در تمایز ژنوتیپ‌های مختلف پسته بود. بیشترین مقدار چندشکلی مربوط به آغازگرهای شماره ۱۲، ۱۳ و ۲۰ به میزان ۱۰۰ درصد بود که این آغازگرها دارای بالاترین مقادیر PIC و MI هم بودند لذا، آغازگرهای مذکور با توجه به داشتن اطلاعات سودمند، آغازگرهای آگاهی‌بخش این مطالعه محسوب می‌شوند. کمترین درصد چندشکلی مربوط به آغازگر شماره ۱۰ به میزان ۵۰ درصد با محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۱۸۷ و شاخص نشانگری ۰/۵۶ بود. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده به همراه پارامترهای مورد محاسبه و نتایج مربوطه ارائه گردیده است (جدول ۲). تعدادی نشانگر اختصاصی نیز در بعضی گونه‌ها و ارقام به وسیله آغازگرهای شماره ۳، ۷ و ۱۸ آشکار گردید. از جمله آغازگر شماره ۳ که نشانگرهای اختصاصی برای گونه‌های وحشی ایجاد نمود، که باند مورد نظر در ارقام و ژنوتیپ‌های گونه ورا وجود نداشت. با توجه به اینکه نشانگر SCoT می‌تواند نشانگرهایی ایجاد نماید که مربوط به ژن‌های عملکردی و صفات متناظر آن‌ها در گیاهان باشند. لذا، باند اختصاصی ایجاد شده برای گونه‌های وحشی می‌تواند مربوط به یکی از صفات بیولوژیکی موجود در این گونه‌ها باشد که در گونه ورا وجود ندارد.

جدول ۲. شماره، توالی و دمای اتصال آغازگر، تعداد کل باند، تعداد باند چندشکل، درصد چندشکلی، محتوای اطلاعات چندشکلی و شاخص نشانگری برای آغازگرهای SCoT مورد استفاده در این مطالعه

Table 2. Number, sequence and binding temperature of primers, the total bands, polymorphic bands, polymorphism Percent, Polymorphism information content (PIC), Marker Index (MI) for used SCoT primers in this study

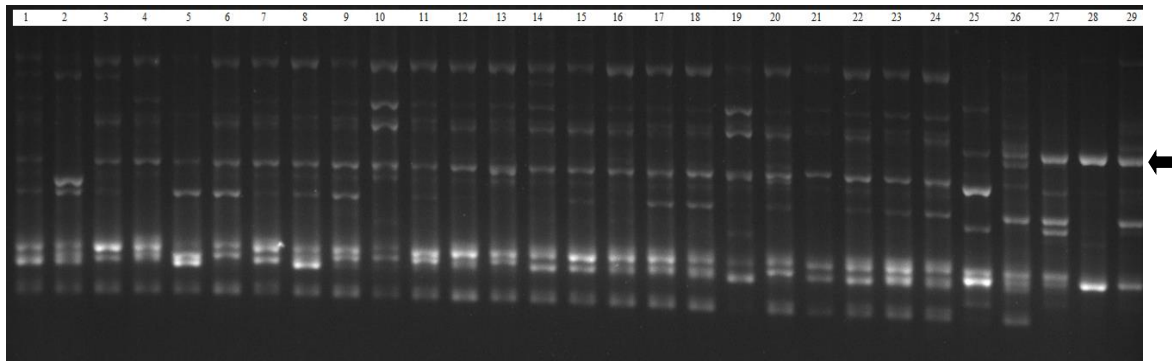
شماره No	توالی آغازگر (۵'-۳') Primer sequence(5'-3')	دمای اتصال Ta °(C)	کل باند Total bands	باند چندشکل Polymorphic bands	درصد چندشکلی Polymorphism (%)	PIC	MI
1	CAACAATGGCTACCACA	52	14	12	85.71	0.28	2.52
2	CAACAATGGCTACCACC	54	15	13	86.6	0.24	1.92
3	CAACAATGGCTACCACG	54	21	21	100	0.38	3.07
4	CAACAATGGCTACC ACT	52	16	14	93.75	0.18	1.63
5	CAACAATGGCTACCACA	52	21	21	100	0.22	2.44
6	CAACAATGGCTACCACC	54	15	15	100	0.21	2.62
7	CAACAATGGCTACCACG	54	17	17	100	0.26	2.11
8	CAACAATGGCTACC ACT	52	15	15	100	0.26	0.38
9	CAACAATGGCTACCAGA	52	8	7	87.5	0.28	1.96
11	AAGCAATGGCTACCACA	52	6	3	50	0.18	0.56
12	ACGACATGGCGACCAG	54	20	20	100	0.18	2.25
13	ACGACATGGCGACCAG	54	29	29	100	0.31	4.32
16	ACCATGGCTACCACCGC	54	25	25	100	0.25	3.48
18	ACCATGGCTACCACCGC	54	23	21	91.3	0.27	2.98
19	ACCATGGCTACCACCGC	54	18	15	83.3	0.21	1.3
20	ACCATGGCTACCACCGG	54	16	16	100	0.2	2.21
21	ACGACATGGCGACCCA	54	19	18	94.73	0.25	2.32
22	AACCATGGCTACCACCC	54	15	15	100	0.27	3.05
23	CACCATGGCTACCACCG	54	16	16	100	0.31	3.08
24	CACCATGGCTACCACCT	54	21	21	100	0.29	4.14
30	CCATGGCTACCACCGGG	58	26	26	100	0.3	3.95
31	CCATGGCTACCACCGCT	58	15	14	93.33	0.2	1.85
32	CCATGGCTACCACCGCC	56	16	16	100	0.24	2.62
34	ACCATGGCTACCACCGA	54	25	25	100	0.25	3.56
36	GCAACAATGGCTACCAC	54	17	17	100	0.26	2.75
کل			449	433			
میانگین			17.96	17.32	96.43	0.25	2.59

در مطالعه دیگری که در زمینه روابط فیلوژنتیک گونه‌های پسته ایرانی از طریق نشانگر SCoT انجام شد نیز باند اختصاصی برای بعضی گونه‌ها مشاهده گردید (Zarei & Erfani-Moghadam 2021). پیش از این نیز در سایر محصولات، ایجاد نشانگرهای اختصاصی توسط آغازگرهای SCoT گزارش شده بود (Mulpuri et al. 2013). تصاویر الگوی الکتروفورزی قطعات تکثیری DNA ژنوتیپ‌های مورد مطالعه توسط آغازگر شماره ۱۳ (شکل ۱) و آغازگر شماره ۳ که حاوی باند اختصاصی برای گونه‌های وحشی است (شکل ۲)، نشان داده شده است.



شکل ۱. الگوی الکتروفورزی قطعات تکثیرشده DNA ژنوتیپ‌های جنس پسته با استفاده از آغازگر SCoT شماره ۱۳ (اعداد مندرج در بالای تصویر مربوط به ژنوتیپ‌های پسته مورد مطالعه در جدول ۱ می‌باشند: ۱- قزوینی ۲- جندقی ۳- سرخس ۴- اکبری ۵- ایتالیایی ۶- راور (۱) ۷- غلامرضایی ۸- ممتاز تاج‌آبادی ۹- خنجری دامغان ۱۰- احمدآقایی ۱۱- موسی‌آبادی ۱۲- کله قوچی ۱۳- فندقی غفوری ۱۴- سفیدپسته نوح ۱۵- بادامی زرنند ۱۶- سیف‌الدینی ۱۷- اوحدی ۱۸- MT1 ۱۹- BK1 ۲۰- BK6 ۲۱- BK7 ۲۲- M4 ۲۳- M5 ۲۴- M7 ۲۵- UCB1 ۲۶- بانه ۲۷- بانه باغی ۲۸- آتلانتیکا ۲۹- اینتگریمما)

Figure 1. Electrophoresis pattern of DNA amplified fragments of Pistacia genotypes by SCoT primer No. 13 (The inserted numbers at the top of the image are related to the studied Pistachio genotypes listed in the Table 1: 1- Ghazvini 2- Jandaghi 3- Sarakhs 4- Akbari 5- Italiaei 6- Ravar(1) 7- Gholamrezaei 8- Momtaz TajAbadi 9- Khanjari Damghan 10- AhmadAghaei 11- MoosaAbadi 12- Kaleghochi 13- Fandoghi Ghafoori 14- SefidPesteh Nough 15- Badami Zarand 16- Seifoddini 17- Ohadi 18- MT1 19- BK1 20- BK6 21- BK7 22- M4 23- M5 24- M7 25- UCB1 26- Mutica 27- Baneh Baghi 28- Atlantica 29- Integerrima)



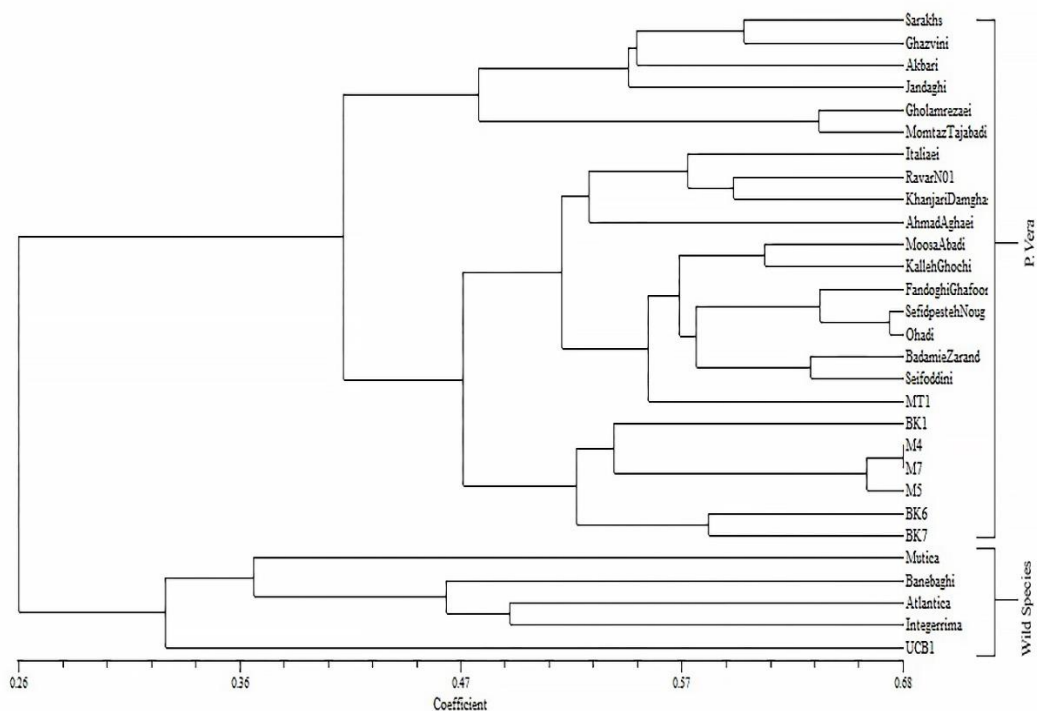
شکل ۲. الگوی الکتروفورزی آغازگر SCoT شماره ۳ با نشانگر اختصاصی ایجادشده در گونه‌های وحشی که به‌وسیله علامت فلش مشخص شده است (اعداد مندرج در بالای تصویر مربوط به ژنوتیپ‌های پسته مورد مطالعه در جدول ۱ می‌باشند: ۱- قزوینی ۲- جندقی ۳- سرخس ۴- اکبری ۵- ایتالیایی ۶- راور(۱) ۷- غلامرضایی ۸- ممتاز تاج‌آبادی ۹- خنجری دامغان ۱۰- احمدآقایی ۱۱- موسی‌آبادی ۱۲- کله قوچی ۱۳- فندق غفوری ۱۴- سفیدپسته نوق ۱۵- بادامی زرند ۱۶- سیف‌الدینی ۱۷- اوحدی ۱۸- MT1 ۱۹- BK1 ۲۰- BK6 ۲۱- BK7 ۲۲- M4 ۲۳- M5 ۲۴- M7 ۲۵- UCB1 ۲۶- بانه ۲۷- بانه باغی ۲۸- آتلانتیکا ۲۹- اینتگریمما)

Figure 2. Electrophoresis pattern of SCoT primer No. 3 with wild species-specific created marker that indicated by the arrow (The inserted numbers at the top of the image are related to the studied Pistachio genotypes listed in the Table 1: 1- Ghazvini 2- Jandaghi 3- Sarakhs 4- Akbari 5- Italiaei 6- Ravar(1) 7- Gholamrezaei 8- Momtaz TajAbadi 9- Khanjari Damghan 10- AhmadAghaei 11- MoosaAbadi 12- Kalehghochi 13- Fandoghi Ghafoori 14- SefidPesteh Nough 15- Badami Zarand 16- Seifoddini 17- Ohadi 18- MT1 19- BK1 20- BK6 21- BK7 22- M4 23- M5 24- M7 25- UCB1 26- Mutica 27- Baneh Baghi 28- Atlantica 29- Integerrima)

روابط ژنتیکی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها: دامنه ضرایب تشابه برای ژنوتیپ‌های موردنظر بر اساس ماتریس تشابه ژاکارد بین ۰/۲۵ تا ۰/۶۸ متغیر بود که نشان‌دهنده وجود تنوع بالای ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌هاست. بیشترین شباهت ژنتیکی مشاهده‌شده در این تحقیق مربوط به ژنوتیپ‌های M4 و M7 (۰/۶۷۷) بود. همچنین، ارقام اوحدی و سفیدپسته نوق نیز دارای شباهتی به میزان ۰/۶۷۶ بودند که بیانگر ارتباط تنگاتنگ ژنتیکی آن‌ها می‌باشد، دلیل این امر شاید به علت وجود والدین مشترک باشد. از طرفی رقم اکبری و هیبرید UCB1 (با ضریب تشابه ۰/۲۵۷) دارای بیشترین فاصله ژنتیکی از یکدیگر بودند که این نتیجه دور از انتظار نیست، زیرا رقم اکبری مربوط به گونه ورا می‌باشد، درحالی‌که هیبرید UCB1 حاصل تلاقی بین گونه‌های وحشی اینتگریمما و آتلانتیکا است. این

نتیجه با نتایج مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های پسته که بیشترین میزان تفاوت را بین UCB1 با رقم اکبری نشان داد، مطابقت دارد (Khodadadi et al. 2021). همچنین در مطالعه حاضر هیبرید UCB1 بیشترین شباهت را با بنه باغی و اینترگرما داشت (۰/۵۹ و ۰/۵۶) که تا حدودی مشابه با نتیجه مطالعه فیلوژنی جنس پسته است که بیشترین شباهت UCB1 را با گونه اینترگرما گزارش داده بود (Kafkas 2006). از بین گونه‌های وحشی، بنه (موتیکا) شباهت بیشتری با ارقام و ژنوتیپ‌های گونه‌ی ورا (اهلی) داشت. ارتباط تنگاتنگ ژنتیکی بنه با گونه ورا در مطالعه چندشکلی مولکولی جنس پسته از طریق DNA کلروپلاستی، نیز گزارش شده است (Talebi et al. 2016). همچنین ارتباط زیرگونه کردیکا (یکی دیگر از زیرگونه‌های مربوط به آتلانتیکا در ایران)، نیز با گونه ورا مشاهده گردیده است و بر این اساس عنوان شده که شاید گونه ورا منشأ گونه‌های وحشی باشد (Salehi et al. 2009). میانگین کل ضرایب تشابه بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق ۰/۴۶ محاسبه گردید. پیش از این متوسط ضرایب تشابه محاسبه شده بین تعدادی از گونه‌های پسته به وسیله نشانگر SCoT به میزان ۰/۵۹ گزارش شد (Zarei et al. 2021). این مقدار در پژوهشی که از طریق نشانگر RAPD روی گونه‌ها و ارقام پسته انجام شد، ۰/۵۸ محاسبه گردید (Iranjo et al. 2015). تفاوت در مقادیر میانگین ضرایب تشابه گزارش شده مربوط به نوع نشانگر، نوع ضریب تشابه مورد استفاده و همچنین نوع مواد ژنتیکی در مطالعات مختلف می‌باشد. بر اساس ضریب همبستگی کوفنتیک محاسبه شده بین ماتریس تشابه و نمودارهای درختی حاصل از روش‌های مختلف گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، روش اتصال کامل با داشتن مقدار بالای همبستگی کوفنتیک ($r_{coph} = 0.96$) به عنوان روش مناسب جهت تجزیه خوشه‌ای شناخته شد. به عبارتی نمودار درختی ترسیم شده در این روش، شباهت‌ها و تفاوت‌های بین افراد را بهتر از سایر روش‌ها آشکار ساخت و توانست گونه‌های وحشی پسته را از ارقام و ژنوتیپ‌های گونه ورا (اهلی) متمایز نماید. مطالعات ارزیابی روابط ژنتیکی بین گونه‌ها و ارقام مختلف پسته که با استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی از جمله AFLP، SAMPL و SSR انجام شده نیز، گونه ورا را از سایر گونه‌های وحشی پسته تفکیک نموده‌اند (Arabnezhad et al. 2011; Karimi et al. 2011; Karimi et al. 2009). طبق نمودار درختی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به دو شاخه اصلی تفکیک گردیدند، ارقام و ژنوتیپ‌های مربوط به گونه ورا در شاخه اول قرار گرفتند که این شاخه به سه زیرشاخه تقسیم شد، ارقام در زیرشاخه‌های اول و دوم و ژنوتیپ‌های اهلی پسته نیز (به استثناء MT1) در زیرشاخه سوم قرار گرفتند. منشأ جغرافیایی متفاوت ارقام می‌تواند دلیل جدایی آن‌ها در نمودار درختی باشد. وارپته سرخس یک ژنوتیپ وحشی در گونه ورا می‌باشد و نتایج گروه‌بندی حاصل نشان داد که این وارپته، تشابه ژنتیکی بالایی با ارقام و ژنوتیپ‌های گونه ورا دارد و بیشترین میزان تشابه آن با رقم قزوینی بود. این دو ژنوتیپ در یک خوشه از شاخه اول نمودار درختی قرار گرفتند. قرار گرفتن وارپته سرخس در کنار ارقام اهلی گونه ورا، قبلاً نیز گزارش شده است (Pourian et al. 2019). این نتایج می‌تواند فرضیه‌ای که وارپته سرخس را والد احتمالی ارقام اهلی پسته معرفی کرده، تأیید نماید. بر اساس نتایج پژوهش‌های مختلف در ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف پسته، مبنی بر پایین بودن فاصله ژنتیکی وارپته سرخس با رقم قزوینی و قرارگیری آن‌ها در کنار ارقام اهلی، چنین استنباط شده که وارپته سرخس از مسیر رقم قزوینی به سایر ارقام اهلی تکامل یافته است (Arabnezhad et al. 2011; Ahmadi afzadi et al. 2007;)

Mirzaei et al. 2006). نتایج این پژوهش مبنی بر شباهت بالای سرخس و قزوینی، با نتایج فوق همخوانی دارد و لذا به نظر می‌رسد وارسته سرخس در پیدایش و تکامل پسته اهلی نقش داشته باشد. قابل ذکر است که وارسته سرخس از نظر مورفولوژیکی نیز شباهت زیادی با رقم قزوینی دارد. در شاخه دوم، ژنوتیپ‌های وحشی پسته شامل گونه‌های آتلانتیکا، اینتگریمما، بنه (موتیکا)، بنه باغی و UCB1 قرار گرفتند. طبق تصویر نمودار درختی از بین گونه‌های حامل ژنوتیپ‌های وحشی، بنه ارتباط نزدیک‌تری با گونه ورا داشت (شکل ۳).

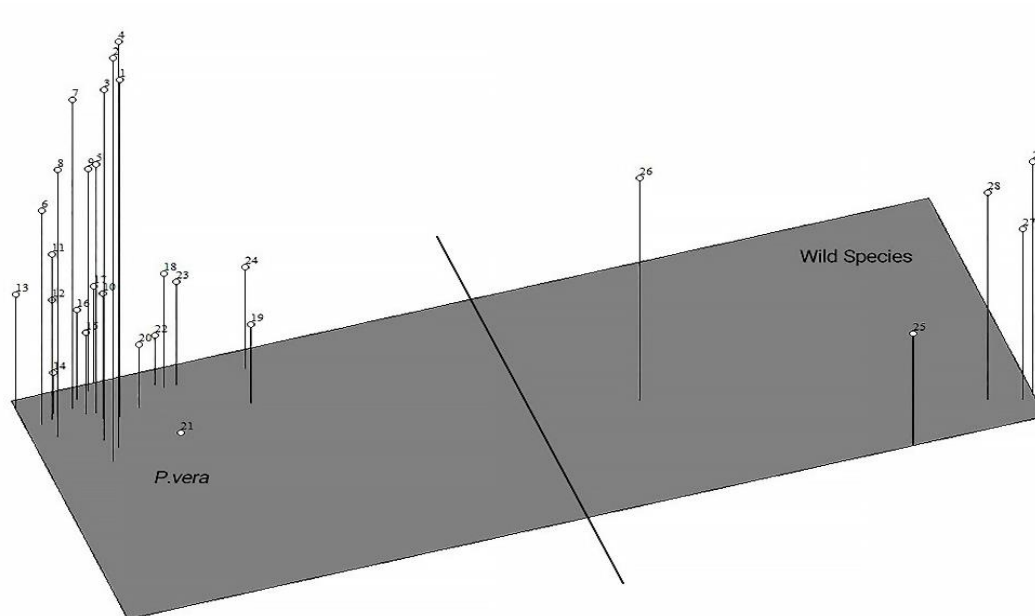


شکل ۳. نمودار درختی ژنوتیپ‌های جنس پسته بر اساس ضریب تشابه ژاکارد با استفاده از روش ارتباط کامل

Figure 3. Dendrogram of *Pistacia* genotypes based on Jaccard's similarity coefficient using complete linkage method

تجزیه به مؤلفه‌های هماهنگ اصلی: تجزیه به مؤلفه‌های هماهنگ اصلی به عنوان روش مکمل تجزیه خوشه‌ای جهت گروه‌بندی افراد و بررسی روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. این تجزیه به‌طور واضح ارقام و ژنوتیپ‌های مربوط به گونه ورا را از سایر گونه‌ها تفکیک نمود. نمودار حاصل از این تجزیه، پراکنش ژنوتیپ‌ها را به‌صورت سه‌بعدی نشان می‌دهند. تجمع افراد در یک ناحیه از نمودار، نشان‌دهنده مجموعه افرادی است که از نظر ژنتیکی مشابه می‌باشند. این نوع گروه‌بندی، مشاهده همه گروه‌ها را ممکن و تفاوت‌ها را در بین افراد مختلف آشکار می‌سازد، به‌طوری‌که فواصل هندسی بین افراد در نمودار نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی

آن‌هاست. مطابق نمودار حاصل از تجزیه به سه مؤلفه اصلی، ژنو تیپ‌ها به دو گروه شامل گونه‌های وحشی و گونه ورا (اهلی) تقسیم‌بندی شدند. این گروه‌بندی‌ها مشابه با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بود و آن را تأیید نمود و لذا آغازگرهای مورد استفاده جهت این مطالعه مناسب هستند. سه مؤلفه اول بیش از ۳۲ درصد واریانس کل بین ژنو تیپ‌ها را توجیه نمودند. این نتیجه اگرچه از نقطه نظر آماری چندان مناسب نیست، اما از نظر ژنتیکی نشان‌دهنده نمونه‌برداری مطلوب نشانگرها از کل ژنوم می‌باشد. به این ترتیب که هر یک از نشانگرهای مورد استفاده از بخش‌های متفاوت ژنوم بوده، بنابراین دارای همبستگی کمتری می‌باشند (Mohammadi 2006; Mohammadi & Prasanna 2003). در مطالعات قبلی بررسی روابط ژنتیکی گونه‌ها و ارقام پسته نیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، ارقام و گونه‌های مختلف را به‌طور واضح از یکدیگر متمایز ساخت (Pazouki et al. 2010). نتایج تجزیه به مؤلفه‌های هم‌هنگ اصلی در مطالعه حاضر، ارتباط ژنتیکی نزدیک‌تری را بین گونه ورا با بنه نسبت به سایر گونه‌های وحشی نشان داد (شکل ۴).



شکل ۴. نمودار سه‌بعدی بر اساس مؤلفه‌های اول، دوم و سوم جهت مطالعه روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های جنس پسته

Figure 4. Three-dimensional graph based on the first, second and third principal components (PC1, PC2 and PC3) to study the genetic relationships of *Pistacia* genotypes

نتیجه‌گیری: آگاهی از روابط ژنتیکی گونه‌ها و ارقام پسته یکی از اجزاء مهم برنامه‌های به‌نژادی این محصول به‌منظور استفاده مؤثر از آن‌ها می‌باشد. نشانگرهای مولکولی یکی از ابزارهای قدرتمند جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط فیلوژنتیک گیاهان می‌باشند. نشانگر SCoT یکی از سیستم‌های سودمند مولکولی است که جهت ارزیابی ارتباط ژنتیکی گونه‌ها و ارقام مختلف

گیاهی کاربرد دارد. این نشانگر چندشکلی بالایی را در بین ژنوتیپ‌های مختلف جنس پسته آشکار نمود که نشان از قدرت تمایز بالای این نشانگر در تفکیک گونه‌ها و ارقام مورد مطالعه، دارد. نکته قابل توجه این مطالعه ایجاد تعدادی نشانگر اختصاصی برای برخی گونه‌ها و ارقام بود. تکنیک SCoT ممکن است تعدادی از نشانگرها عملکردی را ایجاد کند که به طور مستقیم با ژن‌های عملکردی مرتبط باشند. مشخص نمودن اینکه باندهای چندشکل اختصاصی به دست آمده توسط برخی از آغازگرها مربوط به ناحیه عملکردی ژنوم باشند یا خیر، مستلزم تعیین توالی و تجزیه و تحلیل‌های بیشتر و تبدیل این نشانگرها به نشانگر SCAR می‌باشد. نشانگرهای اختصاصی مشاهده شده می‌توانند نقش بسیار مهمی در شناسایی، حفاظت و استفاده از ژرم پلاسما پسته ایفا نمایند. آغازگرهای شماره ۱۲، ۱۳ و ۲۰ دارای بیشترین چندشکلی و بالاترین مقادیر PIC و MI بودند لذا، به عنوان آغازگرهای آگاهی بخش معرفی شده و می‌توانند جهت مطالعات کامل تر در زمینه فیلوژنی جنس پسته مورد استفاده قرار گیرند. نتایج حاصل از ماتریس تشابه و گروه بندی‌های مختلف، سطوح مختلفی از روابط ژنتیکی را در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد. بر این اساس وارپته سرخس تشابه ژنتیکی بالایی با رقم قزوینی و سایر ارقام و ژنوتیپ‌های اهلی داشت. این نتیجه می‌تواند تأییدکننده فرضیه‌ای باشد که سرخس را والد احتمالی ارقام اهلی پسته معرفی نموده است. همچنین از بین گونه‌های وحشی، بنه قرابت بیشتری با گونه ورا داشت و حد واسط این گونه با گونه‌های وحشی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که نشانگر SCoT به عنوان تکنیکی قابل اعتماد که دارای پتانسیل قابل توجهی برای آشکار سازی چندشکلی DNA، انگست‌نگاری و شناسایی ژنوتیپ‌های گیاهی می‌باشد، می‌تواند برای مطالعه روابط فیلوژنتیک بین گونه‌ها و ارقام پسته و به دست آوردن نشانگرهای اختصاصی گونه مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری: از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی و دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان و

پژوهشکده پسته رفسنجان جهت همکاری در اجرای این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- خدادادی شیرین، دشتی حسین، صابری ربه روح اله، ملک‌زاده خلیل، تاج‌آبادی پور علی (۱۴۰۰) تنوع ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های پسته از نظر مقاومت به بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه (*Phytophthora drechsleri*) و ارتباط آن با مارکرهای مولکولی SCoT. مجله ژنتیک نوین. ۱۶ (۳)، ۲۴۸-۲۳۵.
- محمدی سید ابوالقاسم (۱۳۸۵) تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی از دیده گاه بررسی تنوع ژنتیکی. نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه تهران، پردیس ابوریحان. ۹۶-۱۱۹.
- محمدی فر آمنه، فقیه ایمانی سید علی، محمدآبادی محمدرضا، سفلائی محمد (۱۳۹۲) تأثیر ژن *TGFβ3* بر ارزش‌های فنوتیپی و ارثی صفات وزن بدن در مرغ بومی استان فارس. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۵(۴)، ۱۳۶-۱۲۵.
- کریمی حمیدرضا (۱۳۸۹) فیلوژنی گونه‌های جنس پسته. نشر پلک، تهران. ص ۳۱-۷۸.

References

- Ahmadi Afzadi M, Seyed Tabatabaei BE, Mohammadi SA, Tajabadipour A (2007) Comparison of genetic diversity in species and cultivars of pistachio (*Pistacia sp.* L.) based on Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) markers. *Iran J Biotech* 5, 147–152.
- Arabnezhad H, Bahar M, Tajabadipour A (2011) Evaluation of genetic relationships among Iranian pistachios using microsatellite markers developed from *Pistacia khinjuk* Stocks. *Sci Hort* 128(3), 249-254.
- Baghizadeh A, Noroozi Sh, JalaliJavaran M (2010) Study on genetic diversity of some Iranian pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars using random amplified polymorphic DNA (RAPD), inter sequence repeat (ISSR) and simple sequence repeat (SSR) markers: A comparative study. *African J Biotech* 9(45), 7632-7640.
- Collard BC, Mackill DJ (2009) Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Mol Bio Rep* 27(1), 86-93.
- Dempewolf H, Baute G, Anderson J et al. (2017) Past and future use of wild relatives in crop breeding. *Crop Sci* 57(3), 1070-1082.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull J* 19, 11-15.
- Gajera HP, Bambharolia RP, Domadiya RK et al. (2014) Molecular characterization and genetic variability studies associated with fruit quality of indigenous mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Plant Syst Evol* 300(5), 1011-1020.
- Ghaemmaghami L, Attar F, Rahiminejad MR (2013) Distinctness and inter relationships of *Pistacia* L. species in Iran as evidenced by retroelement insertional polymorphisms (IRAP method), *Iran J Bot* 19(1), 78–85.
- Golan-Goldhirsh A, Barazani O, Wang ZS et al. (2004) Genetic relationships among Mediterranean *Pistacia* species evaluated by RAPD and AFLP markers. *Plant Syst Evol* 246(1), 9-18.
- Gower JC (1966) Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53(3-4), 325-338.
- Guney M, Kafkas S, Zarifikhosroshahi M et al. (2021) Genetic diversity and relationships of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) genotypes growing wild in Turkey. *Agro* 11(4), 671-681.
- He SA, Yi TS, Pei SJ, Huang H (2015) Crop plants and their wild relatives. *The Plants of China: A Companion to the Flora of China*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom 23, 283-308.

- Ibrahim SD, Adawy SS, Atia MAM et al. (2016) Genetic diversity, variety identification and gene detection in some Egyptian grape varieties by SSR and SCoT markers. *Plant Omics J* 9(5), 311-318.
- Iranjo P, NabatiAhmadi D, Sorkheh K et al. (2016) Genetic diversity and phylogenetic relationships between and within wild *Pistacia* species populations and implications for its conservation. *J For Res* 27(3), 685-697.
- Kafkas S, Kafkas E, Perl-Treves R (2002) Morphological diversity and a germplasm survey of three wild *Pistacia* species in Turkey. *Genet Resour Crop Evol* 49(3), 261-270.
- Kafkas S (2006) Phylogenetic analysis of the genus *Pistacia* by AFLP markers. *Plant Syst Evol* 262(1), 113-124.
- Karimi HR, Kafkas S (2011) Genetic relationships among *Pistacia* species studied by SAMPL markers. *Plant Syst Evol* 297(3), 207-212.
- Karimi HR (2010) Phylogeny of the *Pistacia* species. Pelk Publication, Tehran, pp. 31-78 (In Persian).
- Karimi HR, Kafkas S, Zamani, Z Ebadi et al. (2009) Genetic relationships among *Pistacia* species using AFLP markers. *Plant Syst Evol* 279(1), 21-28.
- Karimi HR, Zamani Z, Ebadi A, Fatahi R (2012) Genetic relationships among *pistacia* species studied by morphological characteristics and RAPD marker. *Int J Nuts & Related Sci* 3(1), 49-56.
- Katsiotis A, Hagidimitriou M, Drossou A et al. (2003) Genetic relationships among species and cultivars of *Pistacia* using RAPDs and AFLPs. *Euphytica* 132(3), 279-286.
- Khodadadi Sh, Dashti H, Saberi R, Malekzadeh Kh, Tajabadipour A (2021) Genetic diversity of pistachio cultivars and genotypes in terms of resistance to crown and root rot (*Phytophthora drechsleri*) and its relationship with SCoT molecular markers. *New Genet* 16(3), 235-248 (In Persian).
- Luo C, He XH, Hu Y et al. (2014) Oligo-dT anchored cDNA-SCoT: a novel differential display method for analyzing differential gene expression in response to several stress treatments in mango (*Mangifera indica* L.). *Genet* 548(2), 182-189.
- Mahjbi A, Baraket G, Oueslati A, Salhi-Hannachi A (2015) Start Codon Targeted (SCoT) markers provide new insights into the genetic diversity analysis and characterization of Tunisian Citrus species. *Biochem Syst Ecol* 61, 390-398.
- Mais AS, Faory H, Nakar M et al. (2014) Genetic relationships among some *Pistacia* species (Anacardiaceae) in Syria. *Middle-East J Sci Res* 21(9), 1487-1497.

- Malekzadeh KH, Mahmoodnia Meimand M, Farzad Amirebrahimi F (2018) Analysis of genetic diversity among male and female pistachio genotypes using start codon targeted (SCoT) makers. *J Plant Mol Breed* 6(2), 10-18.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27, 209-220.
- Michel D (2017) Iran's impending water crisis. In *Water, Security and US Foreign Policy*, Routledge, pp. 168-188.
- Mirzaei S, Bahar M, Sharifnabi B (2005) A phylogenetic study of Iranian wild pistachio species and some cultivars using RAPD markers. In *IV International Symposium on Pistachios and Almonds* 726, 39-44.
- Mohammadabadi MR (2017) Inter-Simple Sequence Repeat loci Associations with Predicted Breeding Values of Body Weight in Kermani Sheep. *Genet 3rd Millennium* 14 (4), 4383-4390.
- Mohammadifar A, Faghieh Imani SA, Mohammadabadi MR, Soflaei M (2014) The effect of TGFb3 gene on phenotypic and breeding values of body weight traits in Fars native fowls. *Agric Biotechnol J* 5 (4), 125-136.
- Mohammadifar A, Mohammadabadi M (2018) Melanocortin-3 receptor (MC3R) gene association with growth and egg production traits in fars indigenous chicken. *Malays Appl Biol* 47 (3), 85-90.
- Mohammadabadi MR, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using Inter Simple Sequence Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. *J Res Develop* 5 (2), e154.
- Mohammadi SA (2003) Analysis of molecular data from the perspective of genetic diversity. 9th Iranian Congress of Agricultural Sciences and Plant Breeding. Tehran University, AbuRiha Cmpuse. 96-119.
- Mohammadi SA, Prasanna, BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants: Salient statistical tools and considerations. *Crop Sci* 43, 1235-1248.
- Mulpuri S, Muddanuru T, Francis G (2013) Start codon targeted (SCoT) polymorphism in toxic and non-toxic accessions of *Jatropha curcas* L. and development of a codominant SCAR marker. *Plant Sci* 207, 117-127.
- Pazouki L, Mardi M, Salehi Shanjani P (2010) Genetic diversity and relationships among *Pistacia* species and cultivars. *Conserv Genet* 11(1), 311-318.
- Powell W, Morgante M, Andre C (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed* 2(3), 225-238.

- Pourian MR, Bakhshi D, Aalami A, Hokmabadi H (2019) Assessment of genetic relationship among cultivated and wild pistachios (*Pistacia vera* L.) using molecular markers. *J Hort Res* 27(1), 37-46.
- Rohlf FJ (1998) NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.02. Exeter Software, Setauket, NewYork.
- Sankhla AK, Malik CP, Parashar M (2015) A review on start codon targeted (SCoT) marker. *J Plant Sci Res* 31(2), 153-160.
- Salehi Shanjani P, Mardi M, Pazouki L (2009) Analysis of the molecular variation between and within cultivated and wild *Pistacia* species using AFLPs. *Tree Genet Genomes* 5(3), 447-458.
- Talebi M, Akbari M, Zamani M, Seyed Tabatabaei BE (2016) Molecular polymorphism in *Pistacia vera* L. using non-coding regions of chloroplast DNA. *J Genet Eng Biotech* 14(1), 31-37.
- Wu JM, Li YR, Yang LT et al. (2013) cDNA-SCoT: a novel rapid method for analysis of gene differential expression in sugarcane and other plants. *Aust J Crop Sci* 7(5), 659-664.
- Xiong F, Zhong R, Han Z et al. (2011) Start codon targeted polymorphism for evaluation of functional genetic variation and relationships in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes. *Mol biol Rep* 38(5), 3487-3494.
- Xiong FQ, Tang RH, Chen ZL et al. (2009) SCoT: a novel gene targeted marker technique based on the translation start codon. *Mol Plant Breed* 7(3), 635-638.
- Yang HB, Kang WH, Nahm SH, Kang BC (2015) Methods for developing molecular markers. In *Current technologies in plant molecular breeding*, Springer Dordrecht, pp. 15-50.
- Zarei A, Erfani-Moghadam J (2021) SCoT markers provide insight into the genetic diversity, population structure and phylogenetic relationships among three *Pistacia* species of Iran. *Genet Resour Crop Evol* 68, 625-1643.
- Zohary M (1952) A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestine J Bot Jerusalem Ser* 5(4), 187-228.