Archive of SID

ارزیابی تنوع ژنتیکی تعدادی از ارقام پسته استان کرمان بر اساس نشانگر مولکولی RAPD

معصومه حاجی رضایی[۱]، امین باقی زاده*[۲]، غلامرضا جوادی[۱] و مجید صادقی زاده[۳]

[۱] تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، گروه ژنتیک

[۲] کرمان، مرکزبین المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، پژوهشکده علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی

[۳] تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸۶/۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۳

چکیده

ارزیابی تنوع ژنتیکی برای شناسایی ژنهای مختلف و برآورد فاصله بین افراد و جمعیتها، همچنین تعیین میزان هتروزیس بسیار ضروری است. علی رغم اینکه ایران دارای غنی ترین ذخایر ژنتیکی پسته در جهان می باشد با این حال مطالعات اندکی بر روی جنس پسته در ایران انجام شده است. در این تحقیق با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD، تنوع ژنتیکی ۳۲ ژنوتیپ کشت شده در استان کرمان مورد بررسی قرار گرفت. ۱۳۶ باند پلی‌مورف از ده آغازگر به دست آمد. دندروگرام ماتریس صفر و یک حاصل از مهاجرت باندی با استفاده از نرم افزار NTSYS و ضریب تشابه دایس رسم گردید. بر این اساس، ژنوتیپهای بررسی شده در ٦ گروه قرار گرفتند. نتایج نشان داد، ژنوتیپهای مشابه که از نقاط متفاوت جمع آوری شده بودند در گروههای یکسان قرار گرفتند. همچنین ژنوتیپهای اوحدی کرمان و اوحدی زرند تشابه صد در صد نشان دادند. از بررسی پلاتهای دو بعدی و سه بعدی حاصل از تجزیه به مؤلفه های اصلی نتایجی مشابه با نتایج تجزیه کلاستر حاصل گردید، که در بررسی میزان تنوع و انتخاب آغازگر می تواند مورد توجه قرار گیرد.

واژه های کلیدی: تنوع ژنتیکی، پسته، RAPD

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۳۱٤۱٤۱٥٦، پست الکترونیک: baghizadeh@icst.ac.ir

مقدمه

جنس پسته عضوی از خانواده Anacardiceae با ۱۱ گونه می باشد که در این میان *Pistacia vera* (پسته) تنها گونه دارای میوه های خوراکی با اهمیت اقتصادی است (۹). اطلاعات کمی در مورد تنوع جنس پسته موجود می باشد. بیشترین مطالعات انجام شده بر روی جنسهای خانواده Anacardiceae بر اساس خصوصیات مرفولوژیکی آنها صورت گرفته است. اولین مطالعه مرفولوژیکی انجام شده برروی جنس پسته توسط انگلر انجام شد که هشت گونه و تعداد کمی واریته برای این جنس شناسایی گردید (۸). در سال ۱۹۵۲ مطالعه مورفولوژیکی کامل تری توسط زوهاری انجام گرفت که بر اساس آن جنس پسته به ٤ قسمت و ۱۱ گونه *Lentiscella Zoh* (شامل *P.mexicana* و *P.texana*)، *Eu Lentiscus Zoh* (شامل *P.lentiscus* و *P.saporte*)، *Butmela Zoh* (شامل *P. wenmannifolia* و *P.atlantica*)، *Eu-terebinthus* (شامل *P.chinensis* و *P.khinjuk* و *P.palaestina* و *P.terebinthus* و *P.vera L*) تقسیم شد، (۹). همچنین جنس پسته را بر اساس تعداد کروموزومها به سه گروه: *P.lentiscus* (با۲n=۲٤)، *P.atlantica* (با۲n=۲۸) و *P.vera* L (با۲n=۳۰) تقسیم کرده اند (۸). مطالعات سیتوژنتیکی در مورد تنوع ژنتیکی پسته بسیار کم می‌باشند. برخی محققین به منظور بررسی و تشخیص تنوع ژنتیکی بین گونه های پسته مطالعات

www.SID.ir

Archive of SID

ایزوزایمی انجام دادند و این مطالعات نشان داد که استفاده از این روش برای بررسی تنوع ژنتیکی کالتیوارهای نزدیک به هم مفید نمی‌باشد، (٤). کارهای مولکولی کمی در رابطه با بررسی فیلوژنی و تنوع ژنتیکی پسته انجام شده، اخیراً کارهایی توسط هارمازا (٥)، پارفیت و بادنس (٨)، پرل- تروز و کفکاس (٦ و٧)، گلدهریس (٤) در این رابطه صورت گرفته است. هارمازا الگوی خویشاوندی بین ۲۹ کالتیوار پسته را با استفاده از نشانگر مولکولیRAPD مورد بررسی قرار داد، نتایج این تحقیق حاکی از این بود که مقادیر زیادی از پلی مرفیسم در گونه های مورد مطالعه وجود دارد (٥). پارفیت و بادنس نیز با استفاده از نشانگر مولکولی RFLP ژنوم کلروپلاست ۱۰ گونه پسته را مورد بررسی قرار دادند، تجزیه کلاسترحاصل از این تحقیق نشان داد جنسهای پسته در دو گروه اصلی قرار می‌گیرند. همچنین *P.vera* بعنوان گونه‌ای که کمترین مشتقات را دارد معین گردید (٨). پرل-تروز و کفکاس نیز از تکنیک RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی و فیلوژنی برخی ارقام ترکیه و فلسطین اشغالی استفاده کردند. در این پژوهشها از ۱۰ پرایمر پلی مورفیک RAPD استفاده شد و ۱۳۸ باند قابل بررسی مشاهده گردید و از آنها برای انگشت نگاری DNAی این ژنوتیپها استفاده شد و ٤ گونه پسته مورد مطالعه به طور کاملاً واضح از یکدیگر جدا شدند (٦و٧). گلد هریس از نشانگرهای RAPD و AFLP برای بررسی ۲۹ واریته پسته از ٦ جنس موجود در مدیترانه استفاده کرد و دو کلاستر بر اساس جغرافیای محل رویش آنها ایجاد شد (٤). مطالعات ذکر شده همگی توسط محققان خارجی و بر روی گونه ها و ژنوتیپهای موجود در خارج از ایران صورت گرفته است. این در حالی است که منطقه ایران و آسیای مرکزی به عنوان مراکز تنوع ژنتیکی پسته شناخته شده اند. ایران به عنوان مهمترین تولید کننده و صادر کننده پسته، دارای بزرگترین ذخایر ژنتیکی پسته می باشد که در دنیا بی نظیر است، ولی مطالعات انجام شده در این مناطق بسیار محدود است. از آن جمله می توان به مطالعات تاج آبادی پور (۲) و میرزایی (۳) اشاره کرد. تاج آبادی پور برخی ارقام پسته ایران را بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی مورد مطالعه قرار داد که در نتیجه رقمهای رضایی و بادامی با هم و رقمهای راور شماره ۱ و فندقی غفوری با هم در یک گروه قرار گرفتند همچنین ارقام کله قوچی، پوست پیازی و هراتی از دیگر ارقام متمایز بودند (۲) میرزایی نیز با استفاده از مارکر مولکولی RAPD، ۲۲ ژنوتیپ پسته را در سه گروه ارقام زراعی، گونه های وحشی *P.vera* و گونه وحشی بنه *P.mutica* قرار داد (۳).

با توجه به اینکه استفاده بهینه از هر گیاه نیازمند درک منطقی و صحیح از سطح تنوع ژنتیکی آن محصول در طبیعت می باشد و چنین اطلاعاتی منجر به توجه بیشتر کشاورزان، اصلاح کنندگان و دیگر دست اندرکاران حفظ منابع گیاهی به مسئله تنوع زیستی شده و از فرسایش ژنتیکی جلوگیری می‌نماید (۳). در این تحقیق سعی شد تا با بررسی مولکولی ۳۲ ژنوتیپ موجود در مناطق مختلف استان کرمان با آغازگرهای RAPDی که تا کنون استفاده نشده بود زمینه ای برای بهبود کشت پسته، حفظ تنوع ژنتیکی و رونق اقتصادی کشور فراهم شود. هدف از این تحقیق، بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین قرابت ژنتیکی تعدادی از ارقام پسته که از نظر اقتصادی اهمیت دارند و همچنین سطح زیر کشت زیادی را به خود اختصاص داده اند با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD می باشد.

مواد وروشها

مواد گیاهی: نمونه برداری در فصل بهار از برگهای جوان ارقام موجود در استان کرمان به صورت خوشه ای منظم انجام شد. به دین ترتیب که کل استان به ۵ حوزه پسته خیز (رفسنجان، زرند، کرمان، راور و سیرجان) و هر حوزه نیز به ۵ منطقه تقسیم گردید و نمونه برداری از هر منطقه با چند تکرار از ارقام موجود صورت گرفت. همچنین نمونه هایی از کلکسیون مؤسسه تحقیقات پسته کشور در رفسنجان جمع آوری شدند در نهایت ۳۲ ژنوتیپ از جنس

www.SID.ir

Archive of SID

P.vera L . به نامهای خنجری دامغان، بنه، محسنی، اوحدی رفسنجان، کله قوچی راور، ابراهیم آبادی، ایتالیایی، کله قوچی رفسنجان، کسور، اوحدی سیرجان، اوحدی راور، کله قوچی زرند، شستی، سیریزی، اوحدی کرمان، لک سیریزی، ممتاز زرند، غلامرضایی، بادامی زرند، فندقی رفسنجان، نر راور، نر کرمان، بادامی راور، کله قوچی کرمان، اوحدی زرند، خنجری راور، بادامی سیرجان، سفید پسته نوق، نر سیرجان، ممتاز سیرجان، امیری، اکبری سیرجان جمع آوری شدند.

جدول۱- نام و توالی آغازگرهای ۱۰ نوکلئوتیدی

توالی آغازگرها	نام آغازگرها(سری A تا J شرکت سیناژن)
5′-GGT-CTC-CTA-G-3′	A
5′-CGG-AGA-GCG-A-3′	B
5′-CCG-GCA-TAG-A-3′	C
5′-TGG-GCT-CGC-T-3′	D
5′-ACT-TGT-GCG-G-3′	E
5′-CCC-ACT-GAC-G-3′	F
5′-CTG-AGG-AGT-G-3′	G
5′-GGT-CAA-CCC-T-3′	H
5′-GCG-GGA-GAC-C-3′	I
5′-CCT-CAC-CTG-T-3′	J

نمونه های جمع شده پس از شماره گذاری در فویلهای آلومینیومی پیچیده و توسط نیتروژن مایع و با کمک یخ به آزمایشگاه حمل گردیدند. در آزمایشگاه به منظور نگهداری نمونه ها تا زمان مناسب برای استخراج DNA، در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد قرار داده شدند.

استخراج DNA: استخراجDNA ژنومی به روش CTAB NNN,cethyl trimethyl ammonium bromide مطابق با روش هارمازا و همکاران (۵) با اندکی تغییرات انجام شد. برگهای جوان جمع آوری شده از فریزر خارج و بر روی ظرف یخ برای انجام عمل توزین منتقل شدند، سپس یک گرم از برگها در نیتروژن مایع ساییده و به پودر تبدیل گردید. در مرحله بعد ۵۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج شامل Tris-HCL ۱۰۰mM، NaCL ۱/٤ M، ۲۰ mM EDTA، ۲ درصد CTAB، ۱ درصد PVP، ۰/۲ درصد بتا مرکاپتواتانل به آن اضافه و مخلوط گردید. مخلوط حاصل درون میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتر ریخته و به مدت ٦۰ تا ۸۰ دقیقه در حمام آب گرم ٦۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. بعد از این مدت، ۵۰۰ میکرولیتر کلروفرم- ایزو آمیل الکل (۲٤ به ۱) به آنها اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه به آرامی مخلوط شد. سانتریفیوژ نمونه ها در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه انجام و سپس فاز مایع رویی بوسیله سمپلر با دقت برداشته و با ایزوپروپانل سرد (به میزان ۲/۳حجم مایع رویی برداشته شد) مخلوط گردید، و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ ۱۰۰۰۰ rpm قرار گرفت. رسوب حاصل پس از خالی کردن ایزوپروپانل با ۵۰۰ میکرولیتر اتانل ۷٦ درصد شستشو و سپس در معرض هوا در آزمایشگاه خشک گردید آنگاه با اضافه کردن بافر TE (Tris-HCl ۱۰mM ، EDTA ۰/۱ mM با pH ۸) به میزان ۳۰۰ میکرولیتر به هر میکروتیوب و قرار دادن آنها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط اجازه داده شد تا DNA در بافر حل گردد، (۵).

کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از روش عمومی اسپکتروفتومتری (نسبت های $OD^{۲٦۰}$ به $OD^{۲۸۰}$) مورد بررسی قرار گرفت و در صورت نامناسب بودن کیفیت، استخراج DNA مجدداً از نمونه های نامناسب صورت پذیرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

کمیت DNA با استفاده از رابطه[ضریب رقت×۵۰ ×۲۶۰ A = غلظت DNA (میکرولیتر/ نانوگرم)] محاسبه گردید.

تکثیر DNA : واکنش تکثیر DNA با استفاده از ۱۰ آغازگر تصادفی ۱۰ نوکلئوتیدی (جدول۱) مطابق با روش هارمازا (۱۹۹۸) با اندکی تغییرات انجام گردید. هر واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از مواد جدول ۲ انجام شد.

تکثیر در دستگاه ترموسایکلر مدل اپندورف و بر طبق زمانبندی جدول ۳ صورت گرفت.

جدول۲- مواد مورد نیاز برای انجام یک واکنش ۲۵ میکرولیتری

حجم	غلظت نهایی	نام مواد
۲/۵ میکرولیتر	۱۰ X	بافر واکنش
۱میکرولیتر	۲ میلی مولار	$MgCl_2$
۱ میکرولیتر	۰/٤ میکرو مولار	آغازگر
۲ میکرولیتر	۱۰۰ میکرو مولار از هر کدام	dNTP ها
۵ میکرولیتر	۵۰ نانوگرم	DNA ژنومی
۰/۲ میکرولیتر	۱ واحد	آنزیم *Taq*
۱۳/۳ میکرولیتر	-	آب دوبار تقطیر

جدول۳- زمانبندی واکنشهای PCR

مرحله	دما	زمان
واسرشت اولیهDNA	۹٤°c	۲ دقیقه
٤۰ سیکل		
تک رشته‌ای شدنDNA	۹۲°c	۱ دقیقه
اتصال آغازگر به DNA	۳۵°c	۱ دقیقه
بسط آغازگر	۷۲ °c	۲ دقیقه
یک سیکل		
گسترش نهایی	۷۲ °c	۵ دقیقه

بعد از انجام PCR نمونه ها تا زمان انجام الکتروفورز در ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شدند (۵). الکتروفورز نمونه ها در ژل آگارز ۱/۸ درصد (تهیه شده از شرکت سیناژن) در ولتاژ ۸۰ به مدت ۳/۵ ساعت انجام شد. سپس ژل تشکیل شده با اتیدیوم بروماید (۱۰ µg /ml) به مدت ۱۵ دقیقه رنگ آمیزی و بعد از ۲ تا ۳ بار شستشو با آب معمولی زیر نور UV با طول موج ۳۱۲ مشاهده شد و با استفاده از دستگاه ژل داکیومنتیشن عکس برداری صورت گرفت.

تجزیه آماری: امتیاز دهی به باندهای تکثیر شده بر اساس حضور یا عدم حضور به ترتیب با اعداد یک و صفر صورت گرفت. توسط نرم افزار NTSYS ماتریس حاصله با استفاده از ضریب تشابه دایس به ماتریس فاصله تبدیل شد و ماتریس حاصل شده با استفاده از الگوریتم سلسله مراتبی از نوع تجمعی و از روش نزدیکترین همسایه ها مورد آنالیز قرار گرفت و دندروگرام حاصله رسم گردید. همچنین برای کاهش حجم داده ها و تفسیر راحت تر مشاهدات، با استفاده از تجزیه به مؤلفه های اصلی پلاتهای دو بعدی و سه بعدی نیز رسم شد.

نتایج و بحث

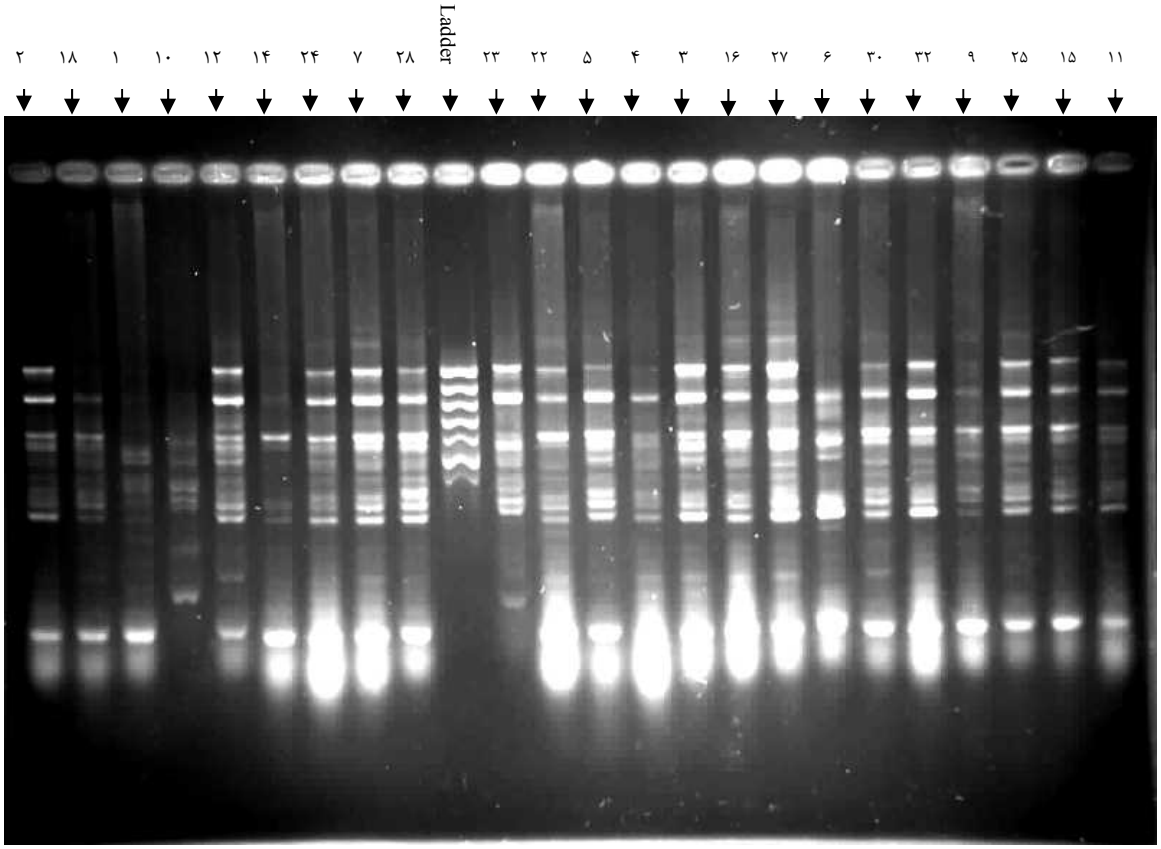
تعداد ۱۷۰ باند قوی و واضح در محدوده ۱۰۰ تا ۲۵۲۰ جفت باز توسط تکثیر با آغازگرهای ذکر شده به دست آمد. تعداد باندهای ایجاد شده بین ۱۳ (آغازگرC) و ۲۵ (آغازگرB و G) متغیر بود. از ۱۷۰ باند حاصل شده ۱۳٦ باند چند شکل دیده شد(شکل ۱).

تجزیه کلاستر، ۳۲ ژنوتیپ مورد مطالعه را در ٦ گروه اصلی قرار داد، (شکل۲). ژنوتیپ بنه و خنجری دامغان در گروه یک قرار گرفتند. با توجه به اینکه ژنوتیپهای خنجری دامغان و بنه از نظر مورفولوژیکی بسیار به یکدیگر نزدیک هستند، قرار گرفتن آنها در یک گروه از نظر ژنتیکی قابل توجه است.

گروه دوم خود به دو زیر گروه اصلی تقسیم شد. زیر گروه الف شامل ارقام محسنی و سفید پسته نوق بود و زیر گروه ب ارقام اوحدی رفسنجان، اوحدی سیرجان، اوحدی راور، اوحدی کرمان، اوحدی زرند، کله قوچی راور، کله قوچی زرند، کله قوچی رفسنجان، ایتالیایی، لک سیریزی، کله قوچی کرمان، فندقی رفسنجان، اکبری سیرجان، ابراهیم آبادی، ممتاز زرند، ممتاز سیرجان، امیری را شامل گردید.

www.SID.ir

Archive of SID



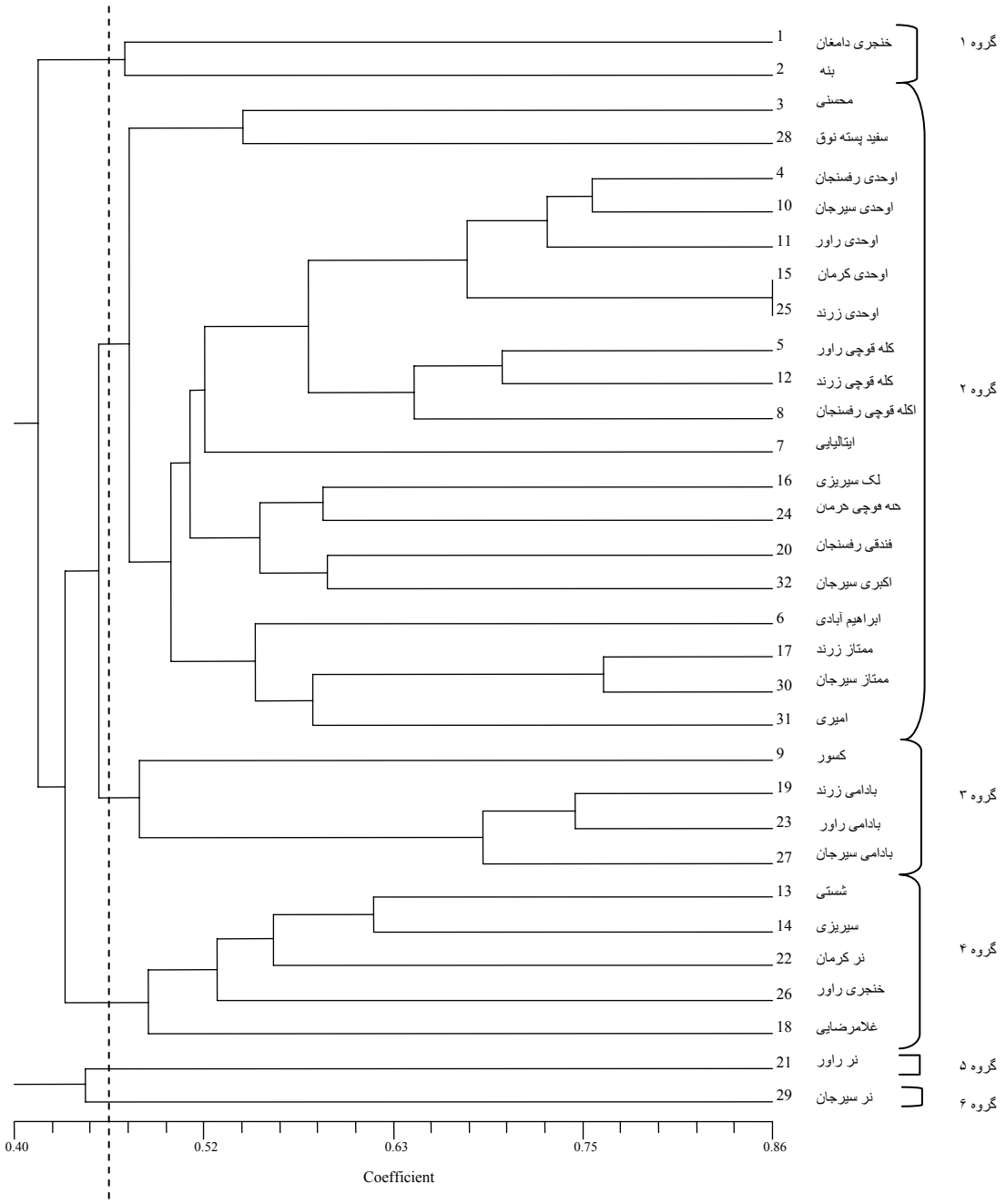
شکل۱-نمونه عکس یک ژل با آغازگرG

در مقایسه این کار با کار میرزایی (۳) مشاهده می شود که درآن تحقیق نیز ارقام کله قوچی و اوحدی در یک زیر گروه قرار داشتند. چنانچه گروه بندی به صورت جزئی تر صورت گیرد مشاهده می شود که ارقام اوحدی، کله قوچی و ممتاز در فاصله ژنتیکی کمتری از یکدیگر جدا می گردند. در گروه سوم کسور، بادامی زرند، بادامی راور، بادامی سیرجان قرار دارند. کسور نوعی ژنوتیپ بادامی وحشی محسوب می شود و قرار گرفتن آن در کنار ژنوتیپهای بادامی مناطق مختلف جالب توجه است. ژنوتیپهای شستی، سیریزی، نر کرمان، خنجری راور، غلامرضایی در گروه چهارم قرار گرفتند. ارقام شستی، سیریزی و غلامرضایی تشابه زیادی دارند، اما قرار گرفتن خنجری راور و نر کرمان در کنار آنها بایستی مورد بررسی قرار گیرد. در کار میرزایی ژنوتیپ غلامرضایی تشابه صد در صد با ژنوتیپ ممتاز نشان داد، و در کار تاج آبادی پور (۲) ژنوتیپ غلامرضایی و بادامی راور شباهت زیادی به یکدیگر داشتند ولی در کار حاضر هر یک از این ژنوتیپها در گروههای مجزا قرار گرفتند. به نظر می رسد تقسیم بندی حاضر با توجه به تعداد مارکرهای بیشتری که مورد استفاده قرار گرفته دقیق تر باشد چرا که به لحاظ مورفولوژیکی نیز تفاوتهای قابل ملاحظه ای بین ژنوتیپهای غلامرضایی، ممتاز و بادامی راور وجود دارد. قرار گرفتن نر راور در گروه پنجم و نر سیرجان در گروه ششم با توجه به تفاوتهایی که جنس نر با جنس ماده دارد کاملاً توجیه پذیر است. به عبارتی پیش بینی تفاوتهای ژنتیکی معنی دار با توجه به تفاوتهای مورفولوژیکی بسیار زیاد جنس نر و ماده بسیار آسان می نماید. ژنوتیپهای اوحدی، کله قوچی، ممتاز و بادامی که از نواحی مختلف استان جمع آوری شده بودند شباهت زیادی به یکدیگر داشته و ژنوتیپهای مشابه در یک گروه قرار گرفتند. همچنین ژنوتیپهای اوحدی و

www.SID.ir

Archive of SID

کله قوچی و ممتاز نسبت به ژنوتیپهای بادامی بیشتر به یکدیگر شبیه بوده و در یک گروه جای گرفتند. ده آغازگر انتخاب شده در این تحقیق قادر به تفکیک دو ژنوتیپ اوحدی کرمان و اوحدی زرند از یکدیگر نبودند واین دو ژنوتیپ در یک جایگاه قرار گرفته و تشابه صد در صد را نشان دادند. در صورتی که با تعداد آغازگرهای بیشتر نیز همین نتیجه تکرار شود بایستی اظهار نمود که دو ژنوتیپ مذکور، یک ژنوتیپ واحد می باشند.

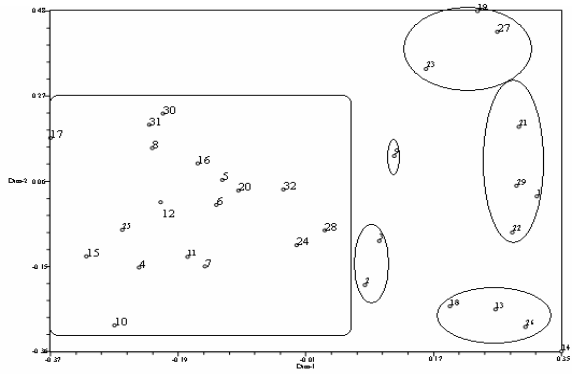


شکل ۲- دندرو گرام حاصل از تجزیه خوشه ای

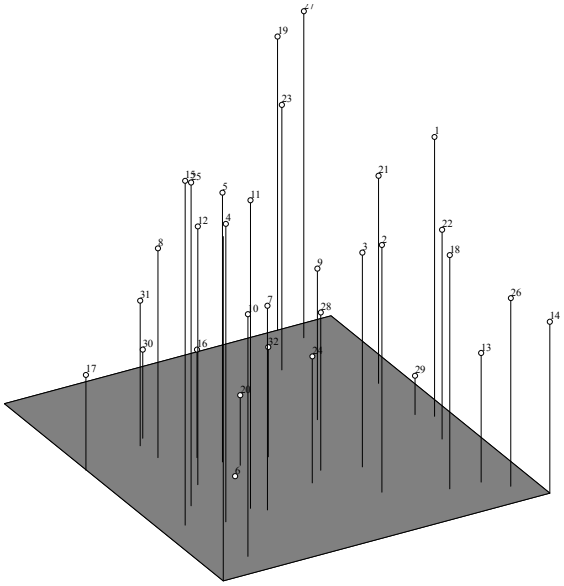
www.SID.ir

Archive of SID

از تجزیه به مؤلفه های اصلی بر روی داده های حاصل از RAPD یک پلات دو بعدی (شکل۳) و یک پلات سه بعدی (شکل٤) حاصل شد. سه مؤلفه اصلی که بیشترین سهم را در ایجاد تنوع موجود داشته اند به ترتیب ۱۲/٦۸ و ۹/۵۵ و ۷/۹۹ درصد از میزان کل تنوع را کنترل کرده اند. از آنجا که اطلاعات به دست آمده از پلاتهای سه بعدی و دو بعدی با نتایج حاصل از تجزیه خوشه ای تطابق نسبی دارند، این مسئله می تواند برای انتخاب آغازگر در تحقیقات بعدی به ما کمک کند. با توجه به تقسیم بندی صورت گرفته به نظر می آید ژنوتیپهای اوحدی، کله قوچی، فندقی، اکبری و ممتاز به لحاظ فیلوژنتیکی به هم نزدیک بوده و قرابت خویشاوندی آنها نسبت به سایر ژنوتیپها بیشتر است، همچنین به لحاظ فیلوژنتیکی ژنوتیپهای کسور و بادامی به هم نزدیک می باشند. علاوه بر این ژنوتیپهای خنجری و بنه قرابت خویشاوندی بالایی دارند. از اطلاعات حاصل می توان در انتخاب پایه و پیوندکهای مناسب و اصلاح باغات موجود بهره گرفت ضمن اینکه با توجه به شرایط آب و هوایی متنوع استان، توجه به قرابت ژنوتیپها می تواند ما را در انتخاب ژنوتیپ مناسب برای احداث باغ جدید در یک منطقه جغرافیایی خاص راهنمایی نماید. بدیهی است با انتخاب پرایمرهای بیشتر یا انواع دیگری از آنها می توان ژنوتیپها را به صورت ریزتر و دقیق تر تفکیک نمود و از اطلاعات حاصله بهره گرفت.



شکل۳-پلات دو بعدی حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی



شکل ٤-پلات سه بعدی حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی

منابع

۱-باقی زاده، الف، (۱۳۸۳)، بررسی صفات مرتبط با عملکرد در جو از طریق تجزیه میانگین نسلها و نشانگر های مولکولی، رساله دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۲-تاج آبادی پور، ع، (۱۳۷٦)، شناسایی برخی از ارقام پسته، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۳- میرزایی، س، بهار، م، شریف نبی، ب، (۱۳۸۳)، تنوع ژنتیکی ارقام پسته ایرانی بر اساس نشانگرهای RAPD، سومین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران

4-Golan-Goldhirsh, A, Barazani, O, Wang, Z. S, Khadka, D. K, Saunders, J.A, Kostikosky,V, and Rowland, L. J, (2004), Genetic relationships among Mediterranean *pistacia* species evaluated by RAPD and AFLP markers, Plant Syst,Vol:246: 9-18.

5-Hormoza, J. I, Pinney,K, and Polito,V.S, (1998), Genetic diversity of Pistachio (*pistacia vera,*

www.SID.ir

Archive of SID

Anacardiaceae) germplasm based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers, Economic Botany 52 (1): 78-87.

6-Kafkas, S, Perl-treves, R, (2001), Morphological and molecular phylogeny of *pistacia* species in turkey, Theor Appl Genet 102: 908-915.

7-Kafkas, S, Perl-treves, R, (2002), Inerspecific relationships in *pistacia* based on RAPD fingerprinting, HortScience 37: 168-171.

8-Parfitt, Dan E, Badenes Maria, L, (1997), Phylogeny of the genus *pistacia* as determined from analysis of the chloroplast genome, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol 94: 7987-7992.

9-Zohary, M, (1952), A monographical study of the genus *pistacia* Palestine journal of Botany (Jerusalem series) 5:187-228

Genetic diversity assessment of a few numbers of pistachio cultivars in Kerman province based on RAPD markers

Hajirezayi M.[1] , Baghizadeh A.[2], Javadi GH.[1], and Sadeghizadeh M.[3]

[1]Science & Research Center , Islamic Azad university, Tehran, I.R. of IRAN

[2] Biotechnology Dept , International Center for Science, High Technology & Environmental Sciences, Kerman, I.R. of IRAN

[3] Biology Dept. Faculty of Science, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Assessment of genetic diversity is highly essential in order to identify different genes, distance estimation between and within populations (enter specific and intra specific relationships), and determination of heterosysis value. In spite of very reach pistachio genetic resources in Iran, a few studies have been carried out on this genus. In the present study, genetic diversity of 32 pistachio cultivated genotypes of Kerman province were investigated using RAPD molecular markers. 136 polymorphic bands were found from 10 primers. Zero–one matrix dendrogram of immigrated bands were drawn by NTSYS software with Dice coefficient. Based on the results, the investigated genotypes were clustered in six groups. The similar genotypes which collected from different regions, were placed in the same groups. Also the results indicated that Kerman Ohadi and Zarand Ohadi genotypes were completely similar. Furthermore, comparison between two and three dimensional plots of principle coordinate analysis method and the clustering method showed that the results were similar. This fact can be considered for investigating diversity and primer selection

Keywords: Genetic diversity, Pistachio, RAPD, Dice coefficient

www.SID.ir