Archive of SID

دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۲، شماره ۲، صفحه ۱۶۷-۱۵۶ (۱۳۹۳)

بررسی ساختار تنوع ژنتیکی جمعیت‌هایی از بنه (*Pistacia atlantica* subsp. mutica) با استفاده از نواحی بین ریزماهواره ژنومی

علی‌اشرف مهرابی*[۱]، سمیرا محمدی[۲]، پیمان غلامی[۳] و علیرضا اطمینان[۴]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ایلام، ایران
پست الکترونیک: a.mehrabi@mail.ilam.ac.ir

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ایلام، ایران

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمانشاه، گروه اصلاح نباتات، کرمانشاه، ایران

۴- استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۱۲

چکیده

گونه بنه (*Pistacia atlantica* subsp. mutica) یکی از باارزش‌ترین گونه‌های جنگلی ایران می‌باشد که با بهره‌برداری بی‌رویه انسان مورد تخریب قرار گرفته است. بنابراین با شناخت تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف بنه می‌توان گام مهمی در جهت توسعه و ترمیم رویشگاه‌های این گونه با ارزش برداشت. در این تحقیق، به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۰ جمعیت بنه شامل ۵۹ ژنوتیپ با استفاده از ۱۶ آغازگر ISSR، در مجموع ۱۵۸ آلل تکثیر شد که ۱۰۰ درصد آلل‌ها چندشکل بودند. تعداد آلل‌های تکثیر شده از ۳ تا ۱۷ با میانگین ۹/۷۸ آلل متغیر بود. محتوای اطلاعات چندشکلی از ۰/۱۶ برای آغازگر UBC866 تا ۰/۳۸ برای آغازگر UBC884 متفاوت بود. همچنین شاخص نشانگر از ۰/۴۸ برای آغازگر UBC866 تا ۵/۹۵ برای آغازگر UBC840 متفاوت بود. تجزیه خوشه‌ای نتوانست ژنوتیپ‌ها را به‌طور کامل از هم تفکیک کند و عدم ارتباط بین تنوع مولکولی و تنوع جغرافیایی را نشان داد. تجزیه به مختصات اصلی نیز این نتایج را تأیید کرد. جمعیت کوشک بیشترین میزان آلل‌های چندشکل (۷۲/۱۵ درصد)، شاخص تصحیح شده هتروزنی (۰/۲۵۷) و شاخص شانون (۰/۳۶۴) را نشان داد، در حالی‌که کمترین میزان آلل‌های چندشکل (۱۰/۱۳ درصد)، شاخص تصحیح شده هتروزنی (۰/۰۵۶) و شاخص شانون (۰/۰۶۱) در جمعیت خارج از زاگرس مشاهده شد. تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که سطح بیشتری از تنوع به درون جمعیت‌ها (۸۲ درصد) تعلق داشت، درحالی‌که تنها ۱۸ درصد تنوع در بین جمعیت‌ها مشاهده گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگرهای ISSR ابزار مفیدی برای ایجاد کلکسیون و حفاظت از ژرم‌پلاسم بنه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: بنه، تجزیه به مختصات اصلی، تجزیه خوشه‌ای، تجزیه واریانس مولکولی، تنوع ژنتیکی، نشانگر ISSR.

مقدمه

جنس پسته (*Pistacia*) متعلق به خانواده سماق (Anacardiaceae) می‌باشد. این جنس ۴۹ گونه دارد. سه گونه پسته در ایران وجود دارد که شامل پسته زراعی یا خندان (*P. vera*)، پسته خنجوک (*P. khinjuk*) و بنه (*P. atlantica*) می‌باشد. بنه دارای سه زیرگونه موتیکا

www.SID.ir

Archive of SID

(*mutica*)، کوردیکا (*kurdica*) و کابولیکا (*cabolica*) می‌باشد (Khatamsaz, 1988). این گونه سطحی معادل ۲/۵ تا ۳ میلیون هکتار از کشور را می‌پوشاند (Kayimov *et al*., 1998).

گونه بنه با نام علمی *P. atlantica* subsp. *mutica* (Fisch. & C. A. Mey.) Rech. f.، گونه‌ای دیپلوئید (۲n=۲x=۲۸) (Ghaffari *et al*., 2002; 2005)، درختچه‌ای، دو پایه و برگ‌ریز می‌باشد (Kafkas & Perl-Treves, 2001). ارزش قابل توجه این گونه در زمینه تولید سقز، میوه و محصولات فرعی (روغن و ...) و استفاده‌های دارویی و خوراکی متعدد آن، استفاده از چوب این گونه برای سوخت، مصارف صنعتی و ساختمانی، میوه و برگ آن در تغذیه و تولید علوفه می‌باشد (Zahedi Pour *et al*., 2005). به لحاظ زیست‌محیطی نیز در حفاظت منابع آب و خاک، تلطیف آب و هوای منطقه، پناهگاه حیات وحش و مقاومت بسیار بالای این گونه به سرما، شوری و خشکی از اهمیت خاصی برخوردار است (Hamzehpour *et al*., 2006). رویشگاه‌های این گونه با ارزش به‌دلایل مختلفی ازجمله آتش‌سوزی، چرای مفرط دام، توسعه اراضی کشاورزی، سقزگیری نادرست، عوامل ژنتیکی و محیطی مختلف به‌همراه سایر فعالیت‌های انسانی مورد تخریب و تجاوز قرار گرفته است و مجموعه حیات گیاهی و جانوری موجود در این رویشگاه‌ها را نیز در معرض تهدید قرار داده است (Zahedi Pour *et al*., 2007; Seyedi *et al*., 2010). بنابراین شناخت تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف بنه می‌تواند گام مهمی در جهت توسعه و ترمیم رویشگاه‌های این گونه با ارزش باشد. یکی از نشانگرهایی که در مطالعات تنوع ژنتیکی موجودات زنده و گیاهان کاربرد دارد، نشانگر ISSR است. این تکنیک دارای سرعت و سهولت اجرا، هزینه پایین و چندشکلی کافی برای اهداف انگشت‌نگاری DNA می‌باشد و عدم نیاز به توالی‌یابی DNA الگو و نیاز به مقدار بسیار کمی DNA، از دیگر مزایای این نشانگر می‌باشد (Tagizad *et al*., 2010; Kafkas *et al*., 2006). نشانگر ISSR در مطالعات تنوع ژنتیکی، فیلوژنی، نشان‌دار کردن ژنی، نقشه‌یابی ژنومی و زیست‌شناسی تکاملی کاربرد دارند (Reddy *et al*., 2002). در تحقیقی Tagizad و همکاران (۲۰۱۲) و همچنین Noroozi و همکاران (۲۰۰۹) با مطالعه تنوع ژنتیکی تعدادی از ارقام پسته ایرانی با نشانگرهای ISSR گزارش کردند که نتایج این نشانگر کارایی بالایی در تخمین چندشکلی دارد. همچنین Fares و همکاران (۲۰۰۹) نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی و نشانگر ISSR را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی توده‌های پسته به‌کار بردند، نشانگرهای ISSR درصد بالایی آلل چندشکل تکثیر کردند. ضمن اینکه Seyedi و همکاران (۲۰۱۰) الگوی پروتئینی سه جمعیت پسته وحشی (*Pistacia atlantica* Desf.) را برای تعیین تنوع ژنتیکی بررسی کردند. دندروگرام به‌دست آمده اگرچه قادر به جداسازی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر نشد ولی تا حدودی توانست سه جمعیت را از یکدیگر تفکیک کند. در تحقیق دیگری Pazouki و همکاران (۲۰۱۰) با مطالعه تنوع ژنتیکی و روابط میان گونه‌ها و ارقام پسته با استفاده از نشانگرهای SSR، اطلاعات مهمی برای جمع‌آوری و حفاظت ژرم‌پلاسم پسته به‌دست آوردند. همینطور Kafkas و همکاران (۲۰۰۶) برای تعیین تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم پسته وحشی، نشانگرهای AFLP، ISSR و RAPD را به‌کار بردند. دندروگرام به‌دست آمده ژنوتیپ‌ها را در دو گروه اصلی قرار داد. در مطالعه Kafkas (۲۰۰۵) با استفاده از نشانگر RAPD سطح بالایی از چندشکلی در پسته وحشی *Pistacia atlantica* Desf. به‌دست آمد. میرزایی و همکاران (۲۰۰۵) با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD، گونه‌های پسته وحشی را در چهار گروه طبقه‌بندی کردند.

به‌طورکلی اهداف اصلی این تحقیق عبارت بودند از:

۱. شناخت ارتباط ژنتیکی و قرابت بین و درون جمعیت‌های بنه، گروه‌بندی آنها و تشکیل یک درخت‌واره براساس انگشت‌نگاری ژنومی حاصل از نشانگرهای ISSR؛
۲. مطالعه میزان تفرق ژنتیکی و تنوع آللی درون و بین جمعیت‌های غرب کشور در مقایسه با ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از مناطق دیگر کشور؛

www.SID.ir

Archive of SID

۳. استفاده از اطلاعات به‌دست آمده در برنامه‌ریزی حفاظت ژرم‌پلاسم و ایجاد کلکسیون از جمعیت‌های بنه برای کارهای اصلاحی.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: در این پژوهش نمونه‌های برگی از ۹ جمیت بنه شامل ۵۵ ژنوتیپ از کوه‌های زاگرس (استان‌های ایلام، کرمانشاه، کردستان و لرستان) و ۱ جمعیت شامل ۲ ژنوتیپ از کوه‌های خارج از زاگرس (استان‌های اصفهان و سیستان و بلوچستان) جمع‌آوری گردید. نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از ثبت مشخصات به‌طور جداگانه در کاغذ آلومینیوم پیچیده شده و توسط نیتروژن مایع منجمد گردیدند. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱- منشأ جغرافیایی ژنوتیپ‌های بنه استفاده شده در این تحقیق

ردیف	کد	نام رویشگاه	ردیف	کد	نام رویشگاه	ردیف	کد	نام رویشگاه	ردیف	کد	نام رویشگاه
۱	I1	ایلام	۱۶	A10	آبدانان	۳۱	P1	پاوه	۴۶	Q4	قلاجه
۲	I2	ایلام	۱۷	A11	آبدانان	۳۲	P2	پاوه	۴۷	Q 5	قلاجه
۳	I3	ایلام	۱۸	Ban1	بانه	۳۳	P3	پاوه	۴۸	K1	کوشک
۴	I4	ایلام	۱۹	Ban2	بانه	۳۴	P4	پاوه	۴۹	K2	کوشک
۵	I5	ایلام	۲۰	Ban3	بانه	۳۵	P5	پاوه	۵۰	K3	کوشک
۶	I6	ایلام	۲۱	Ban4	بانه	۳۶	P6	پاوه	۵۱	K4	کوشک
۷	A1	آبدانان	۲۲	Bay1	باینگان	۳۷	P7	پاوه	۵۲	K5	کوشک
۸	A2	آبدانان	۲۳	Bay2	باینگان	۳۸	P8	پاوه	۵۳	K6	کوشک
۹	A3	آبدانان	۲۴	Bay3	باینگان	۳۹	P9	پاوه	۵۴	K7	کوشک
۱۰	A4	آبدانان	۲۵	Bay4	باینگان	۴۰	J1	جوانرود	۵۵	K8	کوشک
۱۱	A5	آبدانان	۲۶	Bay5	باینگان	۴۱	J2	جوانرود	۵۶	M1	مریوان
۱۲	A6	آبدانان	۲۷	Bay6	باینگان	۴۲	J3	جوانرود	۵۷	M2	مریوان
۱۳	A7	آبدانان	۲۸	Bay7	باینگان	۴۳	Q1	قلاجه	۵۸	Isf	اصفهان
۱۴	A8	آبدانان	۲۹	Bay8	باینگان	۴۴	Q2	قلاجه	۵۹	Sis	سیستان و بلوچستان
۱۵	A9	آبدانان	۳۰	Bay9	باینگان	۴۵	Q3	قلاجه			

استخراج DNA ژنومی: DNA ژنومی از نمونه‌های برگی به روش CTAB براساس دستورالعمل دویل و دویل (Doyle & Doyle, 1987) با اندکی تغییرات استخراج گردید. کمیت و کیفیت DNA نمونه‌ها با استفاده از روش الکتروفورز DNA روی ژل آگارز ۰/۸ درصد و نیز روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر بررسی گردید و DNA نمونه‌ها تا حد ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شد.

مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر DNA ژنومی (غلظت ۱۰۰ نانوگرم)، ۲

www.SID.ir

Archive of SID

میکرولیتر بافر ۱۰X، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۲۰ میلی‌مولار، ۰/۴ میکرولیتر dNTPs ۱ میلی‌مولار، ۱/۲ میکرولیتر آغازگر (غلظت ۱۰ پیکومول)، ۰/۳ میکرولیتر آنزیم *Taq* پلیمراز (۵ واحد) و در نهایت با ۱۳/۶ میکرولیتر آب دو بار تقطیر انجام شد. پس از انجام واکنش PCR (جدول ۲)، الکتروفورز DNA تکثیری بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با بافر TAE, 1X انجام شد و برای رنگ‌آمیزی ژل از محلول اتیدیوم برماید استفاده شد.

جدول ۲- شرایط دمایی و زمانی مورد استفاده برای انجام واکنش PCR

مرحله	تعداد دوره	نوع فعالیت	دما (درجه سانتیگراد)	زمان (ثانیه)
۱	۱	واسرشت سازی اولیه	۹۴	۲۴۰
		واسرشت سازی	۹۴	۳۰
۲	۱۰	اتصال آغازگر	دمای اتصال+۵	۳۰
		بسط آغازگر	۷۲	۶۰
		واسرشت سازی	۹۴	۳۰
۳	۲۵	اتصال آغازگر	دمای اتصال آغازگر	۳۰
		بسط آغازگر	۷۲	۶۰
۴	۱	بسط نهایی	۷۲	۴۲۰
۵	۱	پایان برنامه	۴	۶۰۰

تجزیه و تحلیل داده‌ها

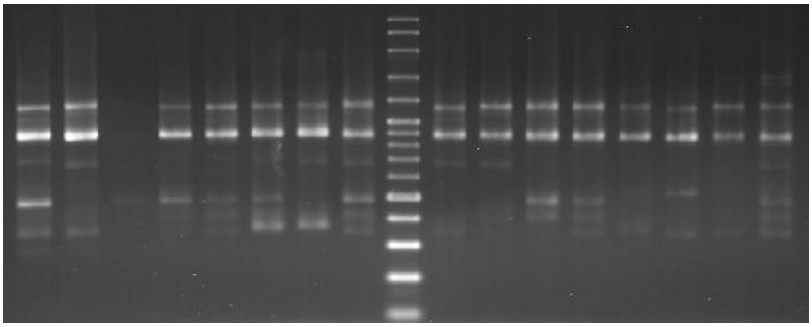
باندهای حاصل از تکثیر ژنوتیپ‌ها با استفاده از هر آغازگر به‌عنوان داده‌های اولیه با اعداد یک (حضور باند) و صفر (عدم حضور باند) امتیازدهی شدند. میزان اطلاعات چندشکل (PIC) بر اساس فرمول $PIC_i = 2f_i(1- f_i)$ (Roldan-Ruiz *et al*., 2000) محاسبه گردید که در آن f_i بیانگر فراوانی ژنوتیپ‌های دارای آلل i‌ام می‌باشد. همچنین میزان شاخص نشانگر (MI) با استفاده از فرمول $MI = PIC \times N \times \beta$ (Hormaza *et al*., 1998) محاسبه شد، به‌طوری‌که PIC میانگین میزان اطلاعات چندشکلی برای هر آغازگر، N تعداد کل باندها برای هر آغازگر و β نسبت چندشکلی برای هر آغازگر می‌باشد. شاخص‌های فاصله همراه با روش‌های اتصال میانگین (UPGMA) و اتصال مجاور (NJ) با استفاده از نرم‌افزار DARwin 5.0 (Perrier *et al*., 2003) محاسبه و با استفاده از نرم‌افزار XLSTAT مقایسه شدند. با روش تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx 6.41 گروه‌بندی جمعیت‌ها در نمودارهای سه بعدی ترسیم شده با نرم‌افزار Minitab 16 (Ryan *et al*., 2012) مورد بررسی قرار گرفت. از نرم‌افزار MEGA 3.1 (Kumar *et al*., 2004) برای تجزیه خوشه‌ای و محاسبه فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها استفاده گردید و سپس با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx 6.41 (Smouse, Peakall & 2006) فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها، میزان مکان‌های چندشکل، شاخص تصحیح شده هتروزنی و شاخص اطلاعات شانون محاسبه و تجزیه واریانس مولکولی نیز انجام شد.

نتایج

محاسبه چندشکلی: از ۲۰ آغازگر ISSR به‌کار رفته، ۱۶ آغازگر چندشکلی مناسبی نشان دادند و امتیازدهی شدند. در مجموع ۱۵۸ باند (آلل) در محدوده بین ۱۰۰ تا ۲۸۰۰ جفت باز تکثیر شد، تعداد آلل‌ها از ۳ تا ۱۷ متغیر بود و میانگین آلل‌های تولید شده، ۹/۸۷ برای هر آغازگر به‌دست آمد. در بین این آغازگرها، آغازگر UBC840 با ۱۷ آلل، بیشترین و آغازگر UBC866 با ۳ آلل کمترین تعداد آلل را به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- الگوی باندی تعدادی از ژنوتیپ‌های مورد بررسی توسط آغازگر UBC841

محاسبه محتوای اطلاعات چندشکلی و شاخص نشانگر: میزان محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) برای هر آغازگر، به‌طور جداگانه محاسبه گردید که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین میزان PIC (۰/۳۸) برای آغازگر UBC884 و کمترین میزان PIC (۰/۱۶) برای آغازگر UBC866 و میانگین PIC معادل ۰/۲۸ برآورد گردید. بیشترین میزان MI (۵/۹۵) برای آغازگر UBC840 و کمترین میزان MI (۰/۴۸) برای آغازگر UBC866 و میانگین MI معادل ۲/۸۶ محاسبه شد.

جدول ۳- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده به‌همراه محتوی اطلاعات چندشکلی و شاخص نشانگر آنها

نام آغازگر	توالی آغازگر (5′ → 3′)	دمای اتصال (°C)	تعداد آللها	تعداد آلل‌های چندشکل	درصد چندشکلی	PIC	MI	اندازه قطعات تکثیری (جفت باز)
UBC809	(AG)۸G	۵۲	۶	۶	۱۰۰	۰/۳۰	۱/۸	۱۵۰-۶۰۰
UBC815	(CT)۸G	۵۲	۵	۵	۱۰۰	۰/۱۷	۰/۸۵	۵۳۰-۱۵۰۰
UBC823	(TC)۸C	۵۲	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۲۳	۲/۳	۳۵۰-۱۵۰۰
UBC824	(TC)۸G	۵۲	۹	۹	۱۰۰	۰/۱۷	۱/۵۳	۵۵۰-۱۹۰۰
UBC826	(AC)۸C	۵۲	۱۴	۱۴	۱۰۰	۰/۳۰	۴/۲	۳۷۰-۲۳۰۰
UBC835	(AG)۸YC	۵۵	۷	۷	۱۰۰	۰/۳۳	۲/۳۱	۳۰۰-۱۹۰۰
UBC840	(GA)۸YT	۵۳	۱۷	۱۷	۱۰۰	۰/۳۵	۵/۹۵	۲۰۰-۲۸۰۰
UBC841	(GA)۸YC	۵۵	۱۵	۱۵	۱۰۰	۰/۲۸	۴/۲	۲۸۰-۲۰۰۰
UBC842	(GA)۸YG	۵۵	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۲۸	۲/۸	۴۵۰-۱۸۰۰
UBC853	(TC)۸RT	۵۳	۸	۸	۱۰۰	۰/۳۲	۲/۵۶	۶۸۰-۲۵۰۰
UBC866	(CTC)۶	۶۱	۳	۳	۱۰۰	۰/۱۶	۰/۴۸	۶۰۰-۱۲۰۰
UBC884	HBH (AG)۷	۵۱	۸	۸	۱۰۰	۰/۳۸	۳/۰۴	۱۶۰-۷۵۰
UBC886	VDV (CT)۷	۵۲	۱۱	۱۱	۱۰۰	۰/۳۳	۳/۶۳	۱۰۰-۱۲۰۰
UBC887	DVD(TC)۷	۵۱	۱۴	۱۴	۱۰۰	۰/۲۸	۳/۹۲	۳۳۰-۱۷۰۰
UBC888	BDB(CA)۷	۵۲	۱۰	۱۰	۱۰۰	۰/۳۰	۳	۲۰۰-۹۰۰
UBC889	DBD(AC)۷	۵۱	۱۱	۱۱	۱۰۰	۰/۲۹	۳/۱۹	۲۵۰-۱۸۰۰

Y =(C یا T)، R =(A یا G)، H =(A یا C یا T)، B =(C یا G یا T)، V =(A یا C یا G)، D =(A یا G یا T)

www.SID.ir

Archive of SID

محاسبه آلل‌های اختصاصی: تعداد کل آلل‌ها و آلل‌های اختصاصی برای جمعیت‌های بنه در جدول ۴ ارائه شده است. بیشترین تعداد آلل‌ها در جمعیت‌های آبدانان و کوشک (۱۱۵) و کمترین تعداد آلل‌ها در جمعیت خارج از زاگرس مشاهده گردید. جمعیت پاوه نیز با ۴ آلل، بالاترین تعداد آلل اختصاصی را نشان داد. ژنوتیپ‌های I2، P5، P6، P9 و K5 دارای آلل اختصاصی می‌باشند.

جدول ۴- تعداد کل آلل‌ها و آلل‌های اختصاصی برای جمعیت‌های بنه

جمعیت	تعداد آلل‌ها	تعداد آلل‌های اختصاصی
ایلام	۸۵	۱
آبدانان	۱۱۵	۲
بانه	۹۵	-
باینگان	۱۱۱	۱
پاوه	۹۹	۴
جوانرود	۸۹	۲
قلاجه	۹۴	-
کوشک	۱۱۵	۱
مریوان	۵۹	-
خارج از زاگرس	۳۹	۱

محاسبه ماتریس‌های فاصله ژنتیکی و ضرایب همبستگی کوفنتیک: در این پژوهش برای مشخص کردن بهترین شاخص فاصله و مناسب‌ترین الگوریتم برای ترسیم دندروگرام، همه شاخص‌های فاصله شامل دایس (Dice)، جاکارد (Jaccard)، اوشیایی (Ochiai) و سوکال (Sokal) با روش‌های اتصال میانگین (UPGMA) و اتصال مجاور (NJ) با استفاده از نرم‌افزار DARwin 5.0 محاسبه و بر اساس ضرایب کوفنتیک حاصل از آزمون مانتل با استفاده از نرم‌افزار XLSTAT مقایسه شدند. شاخص دایس و الگوریتم NJ در آزمون مانتل ضریب کوفنتیک بالاتری نشان داد، در نتیجه در گزارش نتایج از آنها استفاده شد.

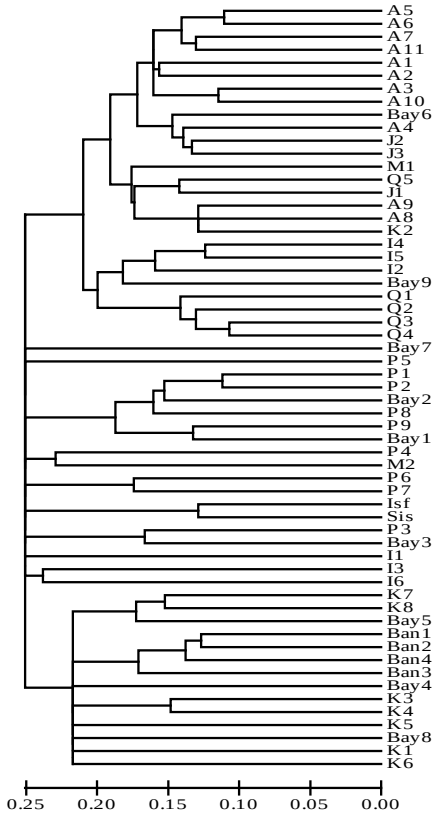
تجزیه خوشه‌ای: با استفاده از داده‌های حاصل از ماتریس فاصله دایس و الگوریتم NJ، تجزیه خوشه‌ای با نرم‌افزار MEGA 3.1 انجام شد. دندروگرام به‌دست آمده (شکل ۲)، ژنوتیپ‌ها را در ۱۱ گروه اصلی تقسیم‌بندی نمود که در گروه اول ۲۶ ژنوتیپ از آبدانان، باینگان، جوانرود، مریوان، قلاجه، کوشک و ایلام، در گروه دوم یک ژنوتیپ از باینگان، در گروه سوم یک ژنوتیپ از پاوه، در گروه چهارم ۶ ژنوتیپ از پاوه و باینگان، در گروه پنجم دو ژنوتیپ از پاوه و مریوان، در گروه ششم دو ژنوتیپ از پاوه، در گروه هفتم دو ژنوتیپ از اصفهان و سیستان و بلوچستان، در گروه هشتم دو ژنوتیپ از پاوه و باینگان، در گروه نهم یک ژنوتیپ از ایلام، در گروه دهم دو ژنوتیپ از ایلام و در گروه یازدهم ۱۴ ژنوتیپ از کوشک، بانه و باینگان قرار گرفتند.

نتایج حاصل از این دندروگرام، عدم ارتباط بین تنوع مولکولی و تنوع جغرافیایی را نشان داد، به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده در یک استان یا شهر در گروه‌ها یا زیرگروه‌های جداگانه‌ای قرار گرفتند که نشان‌دهنده تفاوت ژنتیکی بالای این ژنوتیپ‌ها بود. از طرف دیگر بسیاری از ژنوتیپ‌هایی که در یک گروه قرار گرفتند از مناطق جغرافیایی متفاوت هستند که این مورد دلیل تشابه ژنتیکی گسترده این ژنوتیپ‌ها بود. ژنوتیپ‌های Bay7 و P5 و I1 هر کدام به‌تنهایی در یک گروه اصلی قرار گرفتند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای این ژنوتیپ‌ها بود. ژنوتیپ‌های اصفهان و سیستان و بلوچستان نیز در یک گروه قرار گرفتند.

تجزیه به مختصات اصلی جمعیت‌ها: به‌منظور بررسی بهتر و دقیق‌تر اطلاعات مولکولی، با استفاده از نرم‌افزار GenALEx 6.41 تجزیه به مختصات اصلی انجام شد. گروه‌بندی جمعیت‌ها در یک نمودار سه بعدی ترسیم شده با نرم‌افزار Minitab 16 مورد بررسی قرار گرفت. پراکنش جمعیت‌ها در سه بعد تجزیه به مختصات اصلی (شکل ۳) در مجموع ۸۸/۹۸ درصد از تغییرات را توجیه نمود که ۶۲/۴۵ درصد آن توسط بعد اول، ۱۷/۰۶ درصد توسط بعد دوم و ۹/۴۷ درصد توسط بعد سوم توجیه گردید.

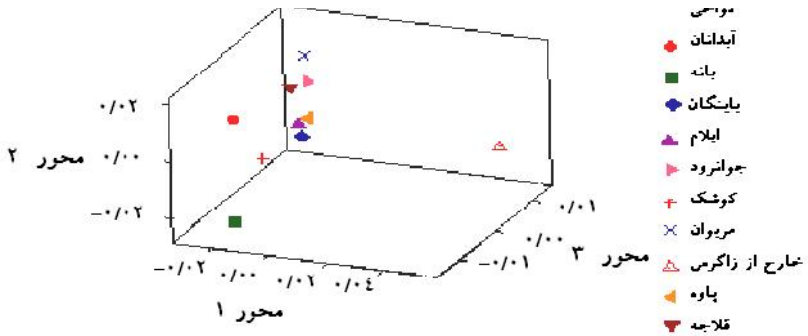
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های بنه با استفاده از روش دایس و الگوریتم NJ

براساس این نمودار جمعیت‌های ایلام، باینگان، پاوه و کوشک نسبت به سایر جمعیت‌ها فاصله کمتری با مرکز محور مختصات داشته و این نشان‌دهنده تنوع آللی و هتروزنی بالای این جمعیت‌ها نسبت به سایر جمعیت‌هاست. جمعیت خارج از زاگرس در فاصله نسبتاً دوری از جمعیت‌های زاگرس قرار گرفته است که نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی زیاد این جمعیت با جمعیت‌های زاگرس می‌باشد.



شکل ۳- نمودار سه بعدی پراکنش جمعیت‌های بنه بر روی سه محور مختصات اصلی اول، دوم و سوم

www.SID.ir

Archive of SID

محاسبه فاصله ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها: برای آگاهی از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها، فواصل ژنتیکی درون جمعیت‌ها براساس ماتریس عدم تشابه دایس با استفاده از نرم‌افزار MEGA 3.1 و نیز ماتریس فاصله و تشابه بین جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx 6.41 از طریق شاخص تصحیح شده Nei، محاسبه گردید. براساس اطلاعات به‌دست آمده (جدول ۵)، کمترین فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها (۰/۲۵۸) مربوط به جمعیت خارج از زاگرس و بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۵۹۳) مربوط به جمعیت ایلام می‌باشد. بیشترین فاصله ژنتیکی شاخص Nei، میان دو جمعیت آبدانان و خارج از زاگرس (۰/۲۳۷) و کمترین فاصله نیز میان دو جمعیت باینگان و پاوه (۰/۰۲۳) بود؛ به‌عبارت دیگر این دو گروه بیشترین شباهت ژنتیکی را با یکدیگر نشان دادند. شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های باینگان و پاوه را می‌توان به فاصله جغرافیایی کم و تشابه شرایط اکولوژیکی حاکم بر آنها ارتباط داد.

جدول۵ – مقادیر فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها، فاصله ژنتیکی (پایین قطر) و همسانی ژنتیکی (بالای قطر) بین جمعیت‌ها

جمعیت	درون جمعیت‌ها	بین جمعیت‌ها									
		ایلام	آبدانان	بانه	باینگان	پاوه	جوانرود	قلاجه	کوشک	مریوان	خارج از زاگرس
ایلام	۰/۵۹۳	***	۰/۸۸۸	۰/۸۶۴	۰/۹۵۸	۰/۹۷۵	۰/۸۷۹	۰/۸۹۶	۰/۹۵۰	۰/۹۰۲	۰/۸۷۳
آبدانان	۰/۳۱۸	۰/۱۱۹	***	۰/۹۱۳	۰/۹۳۳	۰/۹۱۲	۰/۹۴۱	۰/۹۳۷	۰/۹۳۷	۰/۹۱۷	۰/۷۸۹
بانه	۰/۳۰۵	۰/۱۴۶	۰/۰۹۱	***	۰/۹۳۴	۰/۸۹۲	۰/۸۹۵	۰/۸۹۴	۰/۹۲۰	۰/۸۶۵	۰/۷۹۹
باینگان	۰/۴۰۶	۰/۰۴۳	۰/۰۷۰	۰/۰۶۸	***	۰/۹۷۷	۰/۹۴۰	۰/۹۴۰	۰/۹۶۱	۰/۹۳۳	۰/۸۹۵
پاوه	۰/۵۱۶	۰/۰۲۶	۰/۰۹۲	۰/۱۱۵	۰/۰۲۳	***	۰/۹۰۷	۰/۹۰۹	۰/۹۶۱	۰/۹۴۲	۰/۸۹۷
جوانرود	۰/۳۴۷	۰/۱۲۹	۰/۰۶۱	۰/۱۱۱	۰/۰۶۲	۰/۰۹۸	***	۰/۹۲۷	۰/۹۰۲	۰/۹۰۱	۰/۸۰۰
قلاجه	۰/۳۰۰	۰/۱۰۹	۰/۰۶۵	۰/۱۱۲	۰/۰۶۲	۰/۰۹۶	۰/۰۷۶	***	۰/۹۱۶	۰/۹۱۳	۰/۸۰۹
کوشک	۰/۴۷۱	۰/۰۵۲	۰/۰۶۵	۰/۰۸۴	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۱۰۳	۰/۰۸۸	***	۰/۹۲۵	۰/۸۷۲
مریوان	۰/۴۹۴	۰/۱۰۳	۰/۰۸۷	۰/۱۴۵	۰/۰۷۰	۰/۰۶۰	۰/۱۰۴	۰/۰۹۱	۰/۰۷۸	***	۰/۸۲۱
خارج از زاگرس	۰/۲۵۸	۰/۱۳۶	۰/۲۳۷	۰/۲۲۵	۰/۱۱۱	۰/۱۰۸	۰/۲۲۴	۰/۲۱۲	۰/۱۳۷	۰/۱۹۷	***

محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی: با استفاده از تجزیه و تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار GenAlEx 6.41، میزان آلل‌های چندشکل، شاخص تصحیح شده هتروزنی و شاخص اطلاعات شانون، برای هر جمعیت و میانگین کل آنها به‌دست آمد (جدول ۶). جمعیت کوشک با بالاترین درصد آلل‌های چندشکل (۷۲/۱۵)، شاخص تصحیح شده هتروزنی (۰/۲۵۷) و شاخص شانون (۰/۳۶۴) تنوع آللی و هتروزنی بیشتری نشان داد. البته کمترین میزان مکان‌های چندشکل (۱۰/۱۳)، شاخص تصحیح شده هتروزنی (۰/۰۵۶) و شاخص شانون (۰/۰۶۱) نیز مربوط به جمعیت خارج از زاگرس بود.

تجزیه واریانس مولکولی: تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) درون و بین جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار GenALEx 6.41 انجام شد. در تجزیه واریانس مولکولی این امکان نیز وجود دارد تا اجزاء واریانس محاسبه و سهم هر یک از آنها در تنوع کل تعیین شود. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (جدول ۷) نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۱٪ بین جمعیت‌ها وجود داشت که طبق این اطلاعات ۸۲ درصد از تنوع کل مربوط به تنوع درون جمعیت‌ها و ۱۸ درصد آن مربوط به تنوع بین جمعیت‌هاست.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶- محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی برای جمعیت‌های بنه

جمعیت	تعداد ژنوتیپ	درصد مکان‌های چندشکل	شاخص تصحیح شده هتروزنی	شاخص اطلاعات شانون
ایلام	۶	۵۱/۹۰	۰/۱۸۲± ۰/۰۱۶	۰/۲۵۵± ۰/۰۲۱
آبدانان	۱۱	۶۱/۳۹	۰/۱۹۴± ۰/۰۱۵	۰/۲۸۵± ۰/۰۲۱
بانه	۴	۴۲/۴۱	۰/۱۷۴± ۰/۰۱۸	۰/۲۲۸± ۰/۰۲۲
باینگان	۹	۶۳/۹۲	۰/۲۰۰± ۰/۰۱۵	۰/۲۹۲± ۰/۰۲۱
پاوه	۹	۶۲/۰۳	۰/۱۸۹± ۰/۰۱۵	۰/۲۷۸± ۰/۰۲۱
جوانرود	۳	۳۷/۹۷	۰/۱۷۹± ۰/۰۱۹	۰/۲۲۰± ۰/۰۲۳
قلاجه	۵	۴۴/۹۴	۰/۱۷۰± ۰/۰۱۷	۰/۲۳۱± ۰/۰۲۲
کوشک	۸	۷۲/۱۵	۰/۲۵۷± ۰/۰۱۶	۰/۳۶۴± ۰/۰۲۱
مریوان	۲	۲۴/۶۸	۰/۱۳۶± ۰/۰۱۹	۰/۱۴۹± ۰/۰۲۱
خارج از زاگرس	۲	۱۰/۱۳	۰/۰۵۶± ۰/۰۱۳	۰/۰۶۱± ۰/۰۱۵
میانگین	۵۹	۴۷/۱۵	۰/۱۷۴± ۰/۰۰۵	۰/۲۳۶± ۰/۰۰۷

جدول ۷- تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های بنه

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درصد واریانس	آماره **PhiPT**
بین جمعیت‌ها	۹	۳۹۹/۸۵۳	۴۴/۴۲۸	٪۱۸	۰/۱۸۴**
درون جمعیت‌ها	۴۹	۹۵۰/۹۶۱	۱۹/۴۰۷	٪۸۲	
جمع کل	۵۸	۱۳۵۰/۸۱۴		٪۱۰۰	

بحث

مطالعه حاضر اولین بررسی مولکولی جمعیت‌های بنه با استفاده از نشانگرهای ISSR می‌باشد. نتایج نشان داد که تنوع قابل قبولی درون و بین جمعیت‌های مورد مطالعه وجود دارد و آغازگرهای به‌کار گرفته شده دارای کارایی زیادی در شناسایی این تنوع هستند. مطابق نتایج به‌دست آمده ۱۵۸ آلل تکثیر شد، که ۱۰۰ درصد آلل‌ها چندشکل بودند. تعداد آلل‌ها بین ۳ تا ۱۷ با میانگین ۹/۸۷ برای هر آغازگر به‌دست آمد. در مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام و گونه‌های پسته با نشانگر AFLP نیز Ahmadi Afzadi و همکاران (۲۰۰۷) درصد چندشکلی را ۹۵/۲ گزارش کردند. در بررسی تنوع ژنتیکی پسته وحشی *pistacia atlantica* Desf. با نشانگر RAPD نیز Kafkas (۲۰۰۵) تعداد آلل‌ها را ۵ تا ۱۷ و میانگین ۱۰/۵ آلل برای هر آغازگر به‌دست آورد. در بررسی Kafkas و همکاران (۲۰۰۶) تعداد ۱۵۶ آلل چندشکل با میانگین ۷/۷ آلل برای هر آغازگر ISSR به‌دست آمد. در تحقیق Noroozi و همکاران (۲۰۰۹) میانگین آلل‌ها ۹/۳ برای هر آغازگر ISSR تخمین زده شد.

میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) آغازگرها در تحقیق حاضر به‌ترتیب ۰/۲۸ و ۲/۸۶ به‌دست آمد و آغازگر UBC840 بیشترین میزان MI را نشان داد. همچنین در مطالعه Tagizad و همکاران (۲۰۱۰) میانگین PIC و MI آغازگرها به‌ترتیب ۰/۳۹ و ۲/۰۹ گزارش شده است و آغازگر UBC840 بیشترین میزان MI را نشان داده است. با توجه به این که شاخص نشانگری (MI) یک معیار کلی برای تعیین کارایی نشانگر در تخمین چندشکلی می‌باشد، آغازگرهای UBC840، UBC841 و UBC826 با داشتن بالاترین میزان MI

www.SID.ir

Archive of SID

نشان‌دهنده کارایی بالا و قدرت تشخیص بهتر این آغازگرها در تعیین فاصله ژنتیکی می‌باشد، بنابراین می‌توان استفاده از این آغازگرها را در انگشت‌نگاری تمام گونه‌های پسته در اولویت قرار داد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، قادر به گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس مناطق جغرافیایی نبود ولی در مطالعه Seyedi و همکاران (۲۰۱۰) هر چند دندروگرام قادر به جداسازی کامل جمعیت‌ها از یکدیگر نشد ولی تا حدودی توانست سه جمعیت را از یکدیگر تفکیک کند. در مطالعه حاضر ۸۲ درصد از تنوع کل مربوط به تنوع درون جمعیت‌ها و ۱۸ درصد آن مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها بود. تنوع درون جمعیت‌های این گونه توسط Nosrati و همکاران (۲۰۱۲) نیز ۷۷ درصد و تنوع بین جمعیت‌ها ۲۳ درصد گزارش شد.

یکی از اهداف اولیه برای حفظ طبیعت، نگهدارای تنوع ژنتیکی است. با وجود در معرض خطر بودن این گونه ارزشمند، هنوز هم تنوع ژنتیکی کافی برای احیاء، توسعه و ترمیم رویشگاه‌های آن وجود دارد. نظر به اینکه بیشترین تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها و تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌ها می‌باشد، راهبرد حفاظت برای بنه هم شامل حفاظت در محل و هم حفاظت در خارج از محل می‌شود. برای جمعیت‌های با سطوح بالای تنوع ژنتیکی در مناطق مختلف مانند ایلام، باینگان، پاوه و کوشک پیشنهاد می‌گردد که رویشگاه‌های آنها حفاظت شده و بهره‌برداری از آنها ممنوع گردد. جمعیت‌های آبدانان، قلاجه، بانه، جوانرود، مریوان و خارج از زاگرس نیز بهتر است خارج از محل اصلی نگهداری شوند و به برنامه دقیق و تهیه بانک ژرم‌پلاسم نیاز دارند.

منابع مورد استفاده

- Ahmadi Afzadi, M., Seyed Tabatabaei, B.E., Mohammadi, S.A., and Tajabadipur, A., 2007. Comparison of genetic diversity in species and cultivars of pistachio (*Pistacia vera* L.) based on amplified fragment length polymorphism marker. Iranian Journal of biotechnology, 5: 147-152.
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin, 19: 11-15.
- Fares, K., Guasmi, F., Touil, L., Triki, T., and Ferchini, A., 2009. Genetic diversity of pistachio tree using inter simple sequence repeat markers (ISSR) supported by morphological and chemical markers. Biotechnology, 8: 24-34.
- Ghaffari, S.M., and Fasihi-Harandi, O., 2002. Chromosome counts and assessment of two heterochromatic chromosomes in some species of *Pistacia* L. from Iran. Acta Horticulturae, 591: 389-393.
- Ghaffari, S.M., Shabazaz, M., and Behboodi, B.S., 2005. Chromosome variation in *Pistacia* genus. In: Oliveira M.M.,and Cordeiro V., (Eds). XIII GREMPA meeting on almonds and pistachio. Zaragoza, CIHEAM, p.347-354.
- Hamzehpour, M., Bordbar, S.K., Joukar, L., and Abbasi, A.R., 2006. The potential of rehabilitation of wild pistachio forests through straight seed sowing and seedling planting. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 14: 207-220.
- Hormaza, J.I., Plnney, K., and Polito, V.S., 1998. Genetic diversity of pistachio (*Pistacia vera*, Anacardiaceae) germplasm based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Economical Botany, 52: 78-87.
- Kafkas, S., 2005. Detection of polymorphic RAPD markers for *Pistacia atlantica* Desf.. In: Oliveira M.M., and Cordeiro, V., (Eds). XIII GREMPA meeting on almonds and pistachios. Zaragoza, CIHEAM, p.341-346.
- Kafkas, S., and Perl-Treves, R., 2001. Morphological and molecular phylogeny of *Pistacia* species in Turkey. Theoretical and Applied Genetics, 102: 908-915.
- Kafkas, S., Ozkan, H., Erol Ak, B., Acar, I., Alti, H.S., and Koyunky, S., 2006. Detecting DNA polymorphism and genetic diversity in a wide pistachio germplasm: comparison of AFLP, ISSR, and RAPD markers. Journal of the American Society for Horticultural Science, 131:522-529.
- Kayimov, A.K., Sultanov, A.R., and Chernova, G.M., 1998. *Pistacia* in Central Asia. In: Padulosi, S., and Hadj-Hassan, A., (Eds). *Pistacia*: Towards a Comprehensive Documentation of Distribution and Use of Pistacia: Genetic Diversity in Central and West Asia, North Africa and Mediterranean Europe. Report of the IPGRI Workshop, 14-17 December 1998, Irbid, Jordan. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 113p.
- Khatamsaz, M., 1988. Flora of Iran No. 3: Anacardiaceae. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 22p.
- Kumar, S.; Tamura, K., and Nei, M., 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. Briefings in Bioinformatics, 5: 150-163.
- Mirzaei, S., Bahar, M., and Sharifnabi, B., 2005. A phylogenetic study of Iranian wild pistachio species and some cultivars using RAPD markers. Acta Horticulture, 726: 39-43.
- Noroozi, S.H., Baghizadeh, A., and Javaran, M.J., 2009. The genetic diversity of Iranian pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars revealed by ISSR

www.SID.ir

Archive of SID

markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). Molecular Breeding, 6: 125-126.
– Ryan, B.F., Joiner, B.L., and Cryer, J.D., 2012. Minitab Handbook, 6th Edition: Update for Release 16. Cengage Learning, Boston, Massachusetts, 560p.
– Seyedi, N., Jalali, S.G.A., Moghaddam, M., Tabari, M., and Mohammadi, S.A., 2010. Application of seed storage protein in intra-specific variation in three population of *Pistacia atlantica* Desf.. Journal of Plant Biology, 2: 1-14.
– Tagizad, A., Ahmadi, J., Haddad, R., and Zarrabi, M., 2010. A comparative analysis of ISSR and RAPD markers for studying genetic diversity in Iranian pistachio cultivars. Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding, 1: 6-16.
– Tagizad, A., Ahmadi, J., Haddad, R., and Zarrabi, M., 2012. studying genetic diversity in Iranian pistachio using several ISSR markers. Journal of Horticultural Science, 25: 453-460.
– Zahedi Pour, H.A., Fatahi, M., Mirdavood Akhavani, H.R., Goudarzi, G.R., and Azdou, Z., 2005. Distribution of different species of Pistachio in Markazi province of Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 13: 33-78.
– Zahedi Pour, H.A, Fatahi, M., and Mirdavood Akhavani, H.R., 2007. Study of distribution and habitats characteristics of wild *Pistacia* in Markazi province: Area of Saghez mountain of Tafresh Township. Iranian Journal of Biology, 20: 191-199.
markers. Biological Diversity and Conservation, 2: 50-56.
– Nosrati, H., Husainpourfeizi, M.A., Khorasani, M., Razban-Haghighi, A., and Nikniazi, M., 2012. Sex ratio and genetic diversity in the dioecious *Pistacia atlantica* (Anacardiaceae). Journal of Agrobiology, 29: 41-46.
– Pazouki, L., Mardi, M., Shanjani, P.S, Hagidimitriou, M., Pirseyedi, S.M., Naghavi, M.R., Avanzato, D., Vendramin, E., Kafkas, S., Ghareyazie, B., Ghaffari, M.R., and Khayam Nekoui, S.M., 2010. Genetic diversity and relationships among *Pistacia* species and cultivars. Conservation Genetics, 11: 311-318.
– Peakall, R., and Smouse, P.E., 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6: 288-295.
– Perrier, X., Flori, A., and Bonnot, F., 2003. Data Analysis Methods. 43-76. In: Hamon, P., Seguin, M., Perrier, X., and Glaszmann, J.C., (Eds). Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants. Enfield, Science Publishers, Montpellier, 359p.
– Reddy, M.P., Sarla, N., and Siddiq, E.A., 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica, 128: 9-17.
– Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., and De Loose, M., 2000. AFLP

www.SID.ir

Archive of SID

Genetic diversity structure of populations of Baneh trees (*Pistacia atlantica subsp. mutica*) revealed by genomic ISSR markers

A.A. Mehrabi*[1], S. Mohammadi[2], P. Gholami[3] and A.R. Etminan[4]

1*- Corresponding author, assoc. prof., Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ilam University, Ilam, I.R.Iran, Email: a.mehrabi@mail.ilam.ac.ir
2- M.Sc., Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ilam University, Ilam, I.R.Iran
3- M.Sc., Department of Plant Breeding, Kermanshah branch, Islamic Azad University, Kermanshah, I.R.Iran
4- Assist. Prof., Department of Plant breeding, College of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.
Received: 16.01.2014 Accepted: 03.12.2014

Abstract

Pistacia atlantica subsp. *mutica* is one of the most valuable forest species in Iran that has been damaged by uncontrolled exploitation of human being. Therefore, understanding the genetic diversity of different populations of the species, an important step can be taken towards development and restoration of habitat with high value of the species. In order to study the genetic diversity among 10 populations of the species, containing 59 genotypes via 16 ISSR primers, in general estimated 158 alleles of which 100% of alleles were polymorphic. Number of amplified alleles ranged from 3 to 17 with a mean value of 9.78 alleles for each primer. Polymorphic information content (PIC) varied from 0.16 (primer UBC866) to 0.38 (primer UBC884). Marker index criterion ranged from 0.48 (primer UBC866) to 5.95 (primer UBC840). Cluster analysis could not completely separate the samples and showed lack of association between molecular diversity and geographic diversity of the studied populations. Principal coordinant analysis also confirmed the results. Kushk population indicated the highest value of polymorphic alleles (72.15 %) and unbiased expected heterozygosity (0.257) and Shannon's Index (0.364). While, the lowest value of polymorphic alleles (10.13 %) and unbiased expected heterozygosity (0.056) and Shannon's Index (0.061) observed on out Zagros population. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that a larger proportion of genetic variation (82%) belonged to within the populations, while only a small proportion (18%) observed among the studied populations.

Keywords: Analysis of molecular variance, pistachio, cluster analysis, genetic diversity, ISSR marker, principal coordinant analysis.

www.SID.ir