تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های پاکوتاه محلب (*Prunus mahaleb* L.) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی

محمد جواد حبیب زاده (۱)، ابراهیم گنجی مقدم (۱)، محمد حاجیان شهری (۲)، محمود رضا کریمی شهری (۲)، ویدا دهواری (۲)

۱- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، بخش اصلاح نهال و بذر ۲- بخش گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، بخش گیاهپزشکی.

در این تحقیق، تنوع ژنتیکی ۳۰ ژنوتیپ پا کوتاه گزینش شده محلب انتخاب و با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و RAPD مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی‌های مورفولوژیکی ۱٤ صفت مورد استفاده قرار گرفت. جهت تکثیر DNA نمونه‌ها در واکنش PCR از ۲۱ آغازگر ده نوکلئوتیدی انتخاب شد که در نهایت ۱۷ آغازگر تولید باندهای چند شکلی نموده و برای تجزیه و تحلیل نهایی مورد استفاده قرار گرفتند. در مجموع ۹٤ باند در محدوده ۲۵۰ تا ۱۰۰۰ bp به‌دست آمد. گروه بندی ژنوتیپ‌ها به روش تجزیه خوشه ای و با استفاده از الگوریتم UPGMA انجام گرفت و بر این اساس سه گروه اصلی را نشان داد که این گروه‌های به‌دست آمده همبستگی مناسبی را با رده بندی تاکسونومی محلب داشتند. با توجه به جدول تشابه جاکارد بیشترین تشابه بین ژنوتیپ‌های 'DM90'و 'DM96' مشاهده گردید. در تجزیه و تحلیل داده‌های صفات مورفولوژیکی و رسم دندروگرام، ژنوتیپ‌های محلب نیز در سه گروه دسته بندی شدند که این سه گروه با گروه‌های حاصل از نشانگر مولکولی RAPD دارای تفاوت‌هایی بودند. این عدم انطباق را میتوان ناشی از عوامل متعددی دانست و از آنها در برنامه‌های اصلاح نژاد بهره برد.

کلمات کلیدی: محلب،تنوع ژنتیکی، نشانگرهای موفولوژیکی و مولکولی، RAPD

مقدمه:

در ارتباط با شناسایی و انتخاب پایه‌های پاکوتاه محلب در ایران تحقیقات زیادی صورت نگرفته است و عمده تحقیقات بر اساس صفات مورفولوژیکی این گیاه بوده است. لذا با توجه به این که شناسایی پایه‌ها بر اساس خصوصیات و شاخص‌های مورفولوژیک صورت گرفته است، به منظور اطمینان می‌بایستی از لحاظ خصوصیات ژنتیکی نیز مورد بررسی قرار گیرند. نشانگرهای مولکولی مکملی برای تشخیص واریته‌های گیاهی بر پایه صفات مورفولوژیکی در هر مرحله از رشد گیاه می باشند (مانوبنس[1] و همکاران، ۱۹۹۹). در حقیقت شناسایی مولکولی ابزاری است که به تشخیص گونه‌ها و پایه‌های درختان کمک می‌کند و مشاهدات فنوتیپی و ژنتیکی باید به طور متقابل و به صورت مکمل یکدیگر در انگشت نگاری گونه‌ها به کار برده شوند (وانش و هرمزا[2]، ۲۰۰۲). برای مطالعه تنوع ژنتیکی محلب با استفاده از نشانگر RAPD، قارونی و همکاران (۱۳۸۷) تنوع ژنتیکی ۲۸ ژنوتیپ محلب از ٤ منطقه ایران را به همراه یک ژنوتیپ گیلاس و یک ژنوتیپ آلبالو تعیین نمودند. در مطالعه دیگری، جوردانو و گودوی (۲۰۰۰) تنوع ژنتیکی ۷ جمعیت محلب را با استفاده از نشانگر RAPD بررسی کردند که نتایج آنها نیز تنوع ژنتیکی بالایی را در بین جمعیت های محلب نشان داد. در این مطالعه نیز جهت بررسی تنوع ژنتیکی پایه های گزینش شده محلب از نشانگر های مورفولوژیکی و نشانگر مولکولی RAPD استفاده گردید.

مواد و روش ها:

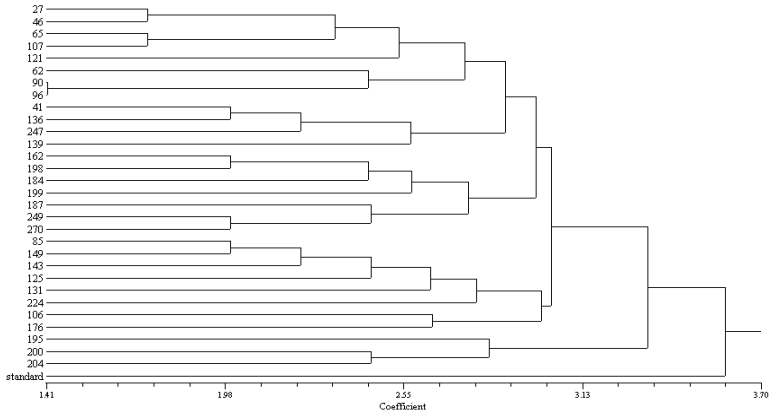
در این تحقیق از ۳۰ ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب موجود در کلکسیون محلب، واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی استفاده شد. ۱٤ صفت مورفولوژیکی شامل: ارتفاع پایه، عرض تاج، حجم تاج، ارتفاع اولین شاخه، طول میانگره، قطر تنه، تعداد میوه در خوشه، ورن میوه، وزن هسته، تاریخ شروع گلدهی، تاریخ ظهور برگ، طول دوره گلدهی، تاریخ شروع خزان و طول دوره خزان جهت بررسی تنوع پایه های پاکوتاه محلب استفاده شد. استخراج DNA از ژنوتیپ‌ها به روش تغییر یافته دلاپورتا و همکاران (۱۹۸۳) انجام شد و به منظور مشاهده حضور یا عدم حضور DNA و

[1] - Manubens
[2] - Wünsch &, Hormaza

تعیین کیفیت و یکپارچگی آن از الکتروفورز ژل آگارز استفاده گردید. جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) از تعداد ٢١ آغازگر RAPD استفاده شد. واکنش PCR در حجم ٢٥ میکرو لیتری انجام شد و تصاویر گرفته شده از ژل‌های الکتروفورز DNA، که در آن قطعات تکثیر یافته توسط هر آغازگر به صورت باندهایی از هم تفکیک شده بودند، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث:

از ٢١ آغازگر مورد استفاده برای PCR در ٤ آغازگر هیچ نوع باندی مشاهده نشد و تنها ١٧ آغازگر برای بررسی نهایی بکار برده شدند. واکنش RAPD با این ١٧ آغازگر تصادفی بر روی ٣٠ ژنوتیپ محلب منجر به تکثیر ٩٢ باند قابل مشاهده شد. تعداد باندهای چند شکلی ٥٤ و دامنه اندازه قطعات تکثیر شده ٢٥٠ تا ١٠٠٠ bp بود. تجزیه خوشه ای ژنوتیپ ها بر اساس ضریب تشابه جاکارد و با استفاده از روش UPGMA انجام شد و ضریب تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ ها در محدوده ٠/٠٠٤ تا ٠/٨٩ با متوسط ٠/٤٨ بدست آمد. دندروگرام بدست آمده بر اساس ضریب تشابه، سه گروه اصلی را نشان داد (شکل ١). برای تجزیه و تحلیل صفات مورفولوژیک پس از یکسان سازی ارزش تمامی صفات، از نرم افزار SPSS 16.0 جهت رسم دندروگرام هر صفت استفاده گردید. در دندرو گرام حاصل، ژنوتیپ های پاکوتاه محلب در سه گرو قرار گرفتند ولی با توجه به نتایج، مشاهده گردید که نتایج بدست آمده این دو نشانگر دارای تفاوت هایی می باشند. این عدم انطباق بین نتایج گروهبندی دندروگرام های نشانگرهای مولکولی و مورفولوژیکی نیز در دیگر مطالعات انجام شده مشاهده شده و این عدم تشابه را به دلایلی همانند اثرات شرایط آب و هوایی مختلف روی صفات مورفولوژیکی، جهش هایی که به سادگی بیان شده و ظاهر می شوند، ولی اثری روی جایگاه اتصال آغازگر ندارند و یا تغییرات پس از رونویسی و توارث غیر هسته ای که در بعضی صفات عامل عدم ارتباط نشانگر های مولکولی و مورفولوژیکی می باشد، مربوط دانسته اند.



شکل١- دندروگرام رسم شده برای ٣٠ ژنوتیپ پاکوتاه محلب در تکنیک RAPD

منابع:

قارونی، ت.، ١٣٨٧، بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های آلبالو تلخه با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، دانشکده گروه باغبانی و گیاه پزشکی.

Jordano, P., and Godoy, J., 2000, RAPD variation and population genetic structure in *Prunus mahaleb* (Rosaceae), and animal-dispersal tree. Molecular Ecology, 9: 1293- 1305.

Manubens, A., Lobos, S., Jadue, Y., Toro, M., Messina, R. Lladser, M., Seelenfrund, D., 1999. DNA isolation and AFLP fingerprinting of nectarine and peach varieties (*Prunus persica*). Plant Molecular Biology Reporter, 17: 255-267.

Wunsch, A., Hormaza, J. I., 2002, Molecular characterization of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) SSR sequences. Heredity, 89; 59-63.

بررسی تنوع ژنتیکی بین کلون‌های انگور رقم بیدانه سفید به کمک نشانگرهای ریز ماهواره

رحیم نیکخواه (۱)، علی عبادی (۲)

۱- عضو هیات علمی گروه علوم باغبانی دانشگاه خلیج فارس، بوشهر ۲- عضو هیات علمی گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران، کرج

در این پژوهش از نشانگر مولکولی ریزماهواره هسته ای برای تعیین تنوع بین ۳٤ بوته انگور رقم بیدانه سفیداستفاده شد. تنوع ژنتیکی بین بوته‌ها با استفاده از ۱٤ نشانگر ریزماهواره انجام شد. اندازه آلل‌ها با دستگاه الکتروفورز کاپیلاری و با برنامه Genotyper و GenScan انجام شد و برای تجزیه خوشه‌ای نمونه‌ها از روش UPGMA استفاده شد. در بین بوته‌های رقم بیدانه سفید مجموعا هشت بوته حداقل در یک جایگاه با ۲٦ بوته باقی مانده تفاوت داشتند. در ضریب تشابه ۹/. دندروگرام ژنتیکی، بوته‌ها به شش گروه دسته بندی شدند. بنابراین در این بررسی شش کلون از انگور رقم بیدانه سفید شناسایی شد. نتایج نشان داد که می توان از نشانگرهای ریزماهواره برای شناسایی تفاوت‌ها بین کلون‌های یک رقم استفاده کرد.

کلمات کلیدی: انگور بیدانه سفید، تنوع ژنتیکی، مارکر مولکولی ریزماهواره

مقدمه

انگور (Vitis vinifera L.) دارای حدود ۱۰۰۰۰ رقم می باشد که حدود ۳۰۰-٤۰۰ رقم آن از نظر تولید محصول دارای اهمیت می باشد و مورد کشت و کار قرار می گیرند(Galletta et al., 1990). با توجه به اینکه مدت زمان طولانی از کشت و تکثیر غیر جنسی بعضی ارقام انگور می گذرد بنابراین احتمال ایجاد جهش های ژنتیکی در بعضی ارقام وجود دارد. به طوری که این جهش ها در ارقامی که ژنتیکی مستعد این تغییرات هستند بیشتر می باشد و به طور کلی میزان جهش در ارتباط با ژنوتیپ، مدت زمان کشت و گستره کشت رقم متفاوت می باشد. گاهی کلون های ایجاد شده در اثر جهش ژنتیکی دارای صفات مفیدی هستند که می توانند بطور مستقیم جهت تولید محصول مورد استفاده قرار گیرند و یا در برنامه های به نژادی بکار گرفته شوند (Hocquigny et al., 2004). با توجه به اینکه امروزه تعداد زیادی از نشانگرهای ریز ماهواره انگور شناسایی شده و جایگاه های زیادی را می توان به کمک آنها مورد بررسی قرار داد لذا می توان از این نشانگرها برای شناسایی تنوع ژنتیکی درون رقم (شناسایی کلون ها) استفاده کرد(Moncada et al., 2006; Bocharova et al., 2009; Carimi et al., 2010). انگور بیدانه سفید یکی از رقم های معروف در ایران است که هزاران سال از کشت آن می گذرد و در این مدت زمان طولانی تکثیر آن به صورت غیر جنسی بوده است و تفاوت های بین بوته ها ممکن است در اثر ایجاد جهش های ژنتیکی باشد. به همین دلیل در این پژوهش تنوع ژنتیکی بین بوته های رقم بیدانه سفید که دارای تفاوت های ظاهری بودند انجام شد.

مواد و روش ها

در این پژوهش ۳٤ بوته از رقم بیدانه سفید که از نظر مورفولوژیکی تفاوت هایی با دیگر بوته های یک باغ داشتند(جدول ۱) جمع آوری و سپس برگ های جوان از بوته ها جمع آوری و DNA مطابق روش توماس و همکاران (1993) استخراج شد. جهت بالا بردن قدرت شناسایی مارکرها ۱٤ آغازگر با چند شکلی بالا که شامل VVS، VVMD5، VVMD7، VVMD1، VVMD21، VVMD25، VVMD27، VVMD36، vrZAG47، vrZAG62، vrZAG79، VMC6D12، VMC6c7 وVMC6g8 می باشد از بین ۱۰۰ آغازگر انتخاب شد.

واکنش زنجیره ای پلی مراز(PCR):

هر واکنش PCR در حجم ۱۲/۵ مایکرولیتر انجام شد و چرخه های حرارتی تکثیر DNA شامل ۵ دقیقه واسرشته سازی اولیه در دمای ۹٤ درجه سانتی گراد و ۳۹ چرخه حرارتی به ترتیب شامل ۳۰ ثانیه دمای ۹٤ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه دمای ٥٦-٤۸ درجه سانتی گراد (بسته به آغازگر)، یک دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای

۷۲ درجه سانتی گراد بود. اندازه گیری طول آلل ها بوسیله دستگاه الکتروفورز کاپیلاری مدل MegaBACE^{TM}-500 انجام شد.

تجزیه های آماری:

تشابه ژنتیکی بین بوته های هر رقم بر اساس مکان های ریزماهواره که دارای چند شکلی بودند با استفاده از نرم افزار NTsys محاسبه شد (Rohlf, 1998). ضرایب تشابه بدست آمده جهت کلاستربندی بوته ها(شکل ۱) با روش UPGMA استفاده شدند (Nei & Li, 1979).

نتایج و بحث:

از ۳٤ نمونه مورد بررسی، ۸ نمونه که شامل نمونه های ۵۱، ٥٦، ٦٤، ۷۰، ۸۰، ۹٦ ، ۱۰۳، ۳۳ بودند نسبت به ۲٦ نمونه دیگر تفاوت ژنتیکی نشان دادند. از این هشت نمونه، نمونه های ۳۳، ۹٦ و ٥٦ مشابه یکدیگر و یک کلون را شامل شدند و نمونه های ۵۱ و ۷۰ نیز مشابه و در کلون دیگری قرار گرفتند و نمونه های ۸۰، ۱۰۳ و ٦٤ هر کدام به تنهایی یک کلون بودند و ۲٦ نمونه باقی مانده نیز همگی یک کلون بودند. بنابراین نمونه های رقم بیدانه سفید که مورد بررسی قرار گرفتند شامل شش کلون بودند. به طوری که پنج کلون با تغییرات ژنتیکی و یک کلون اصلی بدون تغییر بود. با توجه به تغییرات ژنتیکی مشاهده شده در بین نمونه های رقم بیدانه سفید می توان پی به وجود تنوع ژنتیکی در این رقم برد و به دلیل تفاوت اندک بین نمونه ها، نتیجه می گیریم که تغییرات موجود حاصل جهش های ژنتیکی می باشد.و این نمونه های متفاوت را می توان کلون های رقم بیدانه سفید نامید. اگرچه شناسایی تغییرات کلونی به دلیل تفاوت کم مشکل می باشد ولی با انتخاب جایگاه های ریزماهواره ای با چند شکلی بالا شانس شناسایی کلون ها افزایش می یابد .

منابع:

Bocharova , B.R., Kovaliova. I.A. & Mazurenko, S., 2009. Identification of grapevine clone genotypes
by use of microsatellite markers. Cytology and genetics 43, 371-378.

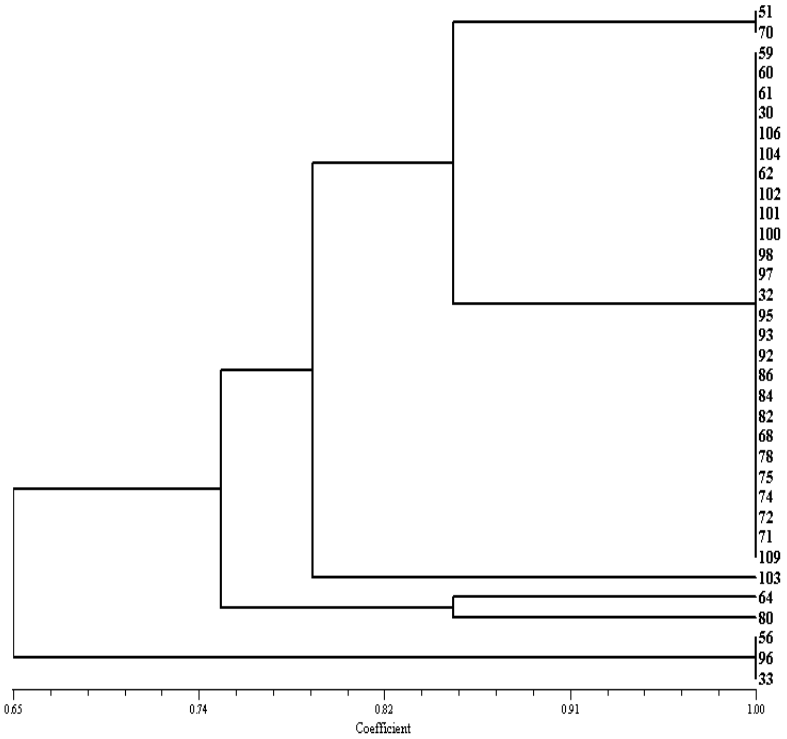
Carimi, F., Mercati, F., Abbate, L. & Sunseri, F., 2010. Microsatellite analyses for evaluation of genetic diversity among Sicilian grapevine cultivars. Genet Resour Crop Evol. 57, 703-719.

Nei, M. and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 5269–5273.

Rohlf, F.J. 1998. NTsys-PC. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.00. Exeter Software, Setauket, NY.

رقم	استان و شهر محل جمع آوری	شماره نمونه
	قزوین (تاکستان)	۵۱، ٥٦
	اصفهان (علویجه)	۳۰، ۳۲، ۳۳
	زنخان (ابهر، خرمدره)	۵۹، ٦۰، ٦۱، ٦۲، ٦٤
	خراسان رضوی (مشهد، قوچان)	۹۲، ۹۳، ۹۵، ۹٦
بیدانه سفید	خراسان شمالی (شیروان، فاروج، بجنورد)	۹۷، ۹۸، ۱۰۰، ۱۰۱، ۱۰۲
	همدان (ملایر)	۱۰۳، ۱۰٤، ۱۰٦، ۱۰۹
	آذربایجان شرقی (بناب، ملکان)	٦۸، ۷۰، ۷۱، ۷۲
	آذربایجان غربی (ارومیه)	۷٤، ۷۵، ۷۸، ۸۰، ۸۲، ۸٤، ۸٦

جدول شماره ۱- مکان های جمع آوری نمونه ها



شکل ۱- دندروگرام مربوط به داده های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره ۳٤ نمونه رقم بیدانه سفید با استفاده از ضریب تشابه Dice و گروه بندی UPGMA

Characterization of Intra-cultivar Diversity in Grapevine "Bidane sefid " genomic Microsatellite Markers

Rahim Nikkhah[1]and Ali Ebadi[2]
[1]Department of Horticultural Science, College of Agriculture, Persian Gulf University, Boushehr, Iran
[2]Department of Horticultural Science, College of Agriculture, University of Tehran, Tehran, Iran

ABSTRACT
The present study was designed to identify intra-cultivar diversity SSR markers within a group of 34 accessions of "Bidane sefid" grapevine. Recognition of genetic diversity between accessions was carried out using 14 SSR markers. Capillary electrophoresis with genotyper and genscan software were used for DNA fragment analyzing. Data were analyzed by NTsys software for genetic analyses. Cluster analyses were performed based on UPGMA method. Eight accessions of "Bidane sefid" were different from 26 remaining accessions. The accessions of "Bidane sefid" were divided into six sub-clusters in genetic dendrogram at 0.9 coefficient of similarity. In this study six clones of "Bidane sefid" were recognized. According to the obtained results, SSR markers can characterize different clones in a cultivar.

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ارقام انارهای محلی ایران با استفاده از مارکر AFLP

زهرا نعمتی (۱)، علی تهرانی فر (۲)، محمد فارسی (۳)، امین میرشمسی کاخکی (۳)، حسین نعمتی (۲)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد ۲- عضو هیئت علمی گروه باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد ۳- عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد

انار یکی از مهمترین گیاهان بومی و تجاری-باغبانی در مناطق بیابانی و نیمه‌بیابانی ایران محسوب می‌شود. به علت تاریخچه طولانی کشت انار در ایران، ژنوتیپ‌ها از مناطق مختلف با تشابهات واضح در ظاهر اما با نام‌های متفاوت قابل مشاهده است. بنابراین برای پرورش و تجارت ارقام انار و جهت مدیریت کارآمد کلکسیون و برنامه‌های اصلاحی آینده تشخیص دقیق ژنوتیپ‌ها مورد نیاز است. در این پروژه DNA ژنومی ۳۱ رقم مختلف انار متعلق به هفت استان ایران، توسط نشانگر مولکولی AFLP، با استفاده از هفت ترکیب آغازگری (EcoRI/MseI) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای حاکی از وجود شباهت بسیار بالا بین ارقام مورد مطالعه بود. همچنین، گروه‌بندی به دست آمده در بسیاری از مواقع با صفات مورفولوژیک موجود مطابقت نداشت. نتایج به دست آمده نشان داد که ارقام عموماً مستقل از خاستگاه جغرافیایی و نامگذاریشان گروه‌بندی شدند. تنوع گسترده انار در ایران و سطح پایین چندشکلی بین این ارقام، می‌تواند مربوط به تکثیر رویشی و نوع گرده افشانی این گیاه باشد.

کلید واژه‌ها: انار، تنوع ژنتیکی، AFLP.

مقدمه

شناسایی، حفاظت و استفاده از منابع ژنتیکی به عنوان یکی از ارزشمندترین ثروت‌های ملی هر کشور از اهمیت خاصی برخوردار است. برای پرورش و تجارت ارقام انار و جهت مدیریت کارآمد کلکسیون و برنامه‌های اصلاحی آینده تشخیص دقیق ژنوتیپ‌ها مورد نیاز است (سرخوش و همکاران، ۲۰۰۹). یکی از راه‌های بررسی تنوع ژنتیکی بین ارقام و جمعیت‌های انار ایرانی استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌باشد. یوآن و همکاران (۲۰۰۷) به منظور بررسی تفاوت‌های ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های انار از نشانگرهای AFLP استفاده کردند. در این مطالعه به دلیل توانمندی و کارایی نشانگر مولکولی AFLP در شناسایی تنوع ژنتیکی ارقام و گونه‌های درختان میوه، تنوع و ساختار ژنتیکی برخی از جمعیت‌های انار ایرانی با استفاده از این نشانگر مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش

مواد گیاهی استفاده شده در این تحقیق از کلکسیون اصلی انار ایران تهیه شده بودند. استخراج DNA براساس روش پیرتیلا و همکاران (۲۰۰۱)، از برگ‌های انار بهینه شد. مراحل AFLP بر پایه روش وس و همکارن (۱۹۹۵) با کمی تغییرات انجام گردید. انگشت‌نگاری AFLP با استفاده از آغازگرهایی با ۳ نوکلئوتید اضافی در انتهای '3 صورت گرفت.

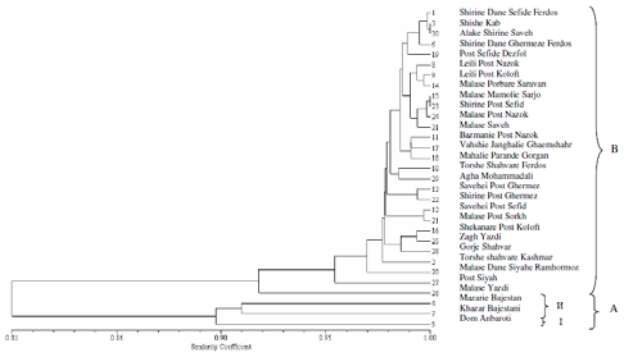
تجزیه داده‌های AFLP: حضور و عدم حضور هر یک از قطعات تکثیر شده به ترتیب با اعداد یک و صفر نمایش داده شد. داده‌ها به منظور محاسبه ماتریس شباهت و تجزیه خوشه‌ای[1] به کمک ضریب تشابه Nei و روش UPGMA به نرم‌افزار NTsys منتقل شدند.

نتایج و بحث

تجزیه AFLP ۳۱ رقم انار، با استفاده از هفت جفت آغازگر، در مجموع ۲۳۷ باند قابل امتیازدهی ایجاد کرد که اندازه آنها در محدوده ۵۰ تا ۱۰۰۰ bp بود. در این بین، ۱۱۲ باند چندشکلی نشان دادند. میانگین تعداد باندهای تکثیر شده به ازای هر جفت آغازگر ۳۳/۸ و میانگین تعداد باندهای چند شکل به ازای هر جفت آغازگر ۱٦ بود (٤۷/۲٦٪).

[1] Cluster Analysis

آنالیزهای مولکولی در بین ۳۱ رقم مورد آزمون: به منظور محاسبه میزان تنوع ژنتیکی بین ارقام، ماتریس شباهت بر مبنای ضریب نی (۱۹۷۲) محاسبه شد (جدول آورده نشده اشت). بر این اساس، تشابه ژنتیکی جفت ارقام بین ۰/۷۹۳ تا ۰/۹۹۷ متغیر بود و میانگین شباهت ژنتیکی بین تمام جفت ارقام ۰/۹٤٤ محاسبه گردید. نتایج تجزیه خوشه‌ای بر اساس شباهت ژنتیکی (نی، ۱۹۷۲) و به روش UPGMA حاکی از وجود شباهت بسیار بالا بین ارقام مورد مطالعه می‌باشد. نتایج نشان داد که با وجود فاصله زیاد جغرافیایی مناطق رویش آنها و خصوصیات مورفولوژیکی متفاوت، شباهت بسیار زیادی در سطح DNA (مولکولی) با هم دارند و در یک گروه قرار گرفته اند (شکل ۱).



شکل۱- دندروگرام به دست آمده از روش UPGMA و ضریب نی (۱۹۷۲) برای ۳۱ رقم انار با استفاده از نشانگرهای AFLP.

ترسیم دندروگرام نشان داد که ارقام مستقل از خاستگاه جغرافیایی و نام محلی، گروه‌بندی شده‌اند. به عبارت دیگر هیچ گروه-بندی مشخصی براساس نام محلی ارقام مشاهده نشد. به صورتی مشابه در مطالعه دیگری که بر روی ژنوتیپ‌های انار درتونس با استفاده از نشانگر AFLP، نویسندگان گزارش دادند که گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها مستقل از خاستگاه جغرافیائی‌شان است و پراکنش یکنواختی در منطقه داشته‌اند (جبیر و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج مشابه دیگری بوسیله یوآن و همکاران (۲۰۰۸) بر روی جمعیت‌های وحشی انار در چین با استفاده از نشانگر AFLP و نارزری و همکاران (۲۰۰۹) بر جمعیت‌های انار وحشی هند با استفاده از نشانگرهای RAPD و DAMD[1] گزارش شده است که نشان دهنده این است چندان الگوی مشخصی در خصوص تفکیک ارقام با توجه به منطقه جغرافیایی (مکان رویش) مشاهده نشده است. با توجه به شواهد تاریخی کشت و کار انار از زمان‌های باستان در ایران رواج داشته است (بهزادی شهربابکی، ۱۳۷۷). انواع درخت مثمر یا زینتی انار را بیشتر به وسیله قلمه تکثیر می‌کنند. درخت انار ازجمله گیاهانی است که علاوه بر خودگرده‌افشانی، دگرگرده‌افشان نیز می‌باشد. با توجه به فاصله جغرافیایی زیاد بین مناطق مختلف کشت و کار انار امکان دگرگرده‌افشانی بین ارقام مناطق مختلف نمی‌باشد. بنابراین با توجه به اینکه تکثیر رویشی عمده‌ترین روش تکثیر انار است، میزان شباهت بالا در میان این ارقام قابل توجیه می‌باشد.

فهرست منابع

بهزادی شهر بابکی، ح.۱۳۷۷. پراکندگی و تنوع ارقام انار ایران. ۱۳۷۷. نشر آموزش کشاورزی. چاپ اول.

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

Narzary, D., Mahar, K.S., Rana, T.S. and Ranade, S.A. 2009. Analysis of genetic diversity among wild pomegranates in Western Himalayas, using PCR methods. *Scientia Horticulturae*. 121: 237–242.

[1].Directed amplification of minisatellite DNA

Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Nature*. 106: 283–292.
Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R. and Ranjbar, H. 2009. Evaluation of genetic diversity among Iranian soft-seed pomegranate accessions by fruit characteristics and RAPD markers. *Scientia Horticulturae*. 121: 313–319.
Pirttila A., Hirsikorpi., M.M., Kamarainen., T., Jaakola., L. and Hohtola, A. 2001. DNA isolation methods for medicinal and aromatic plants. *Plant Molecular Biology Reporter.* 19: 273.
Vos, P. Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23: 4407-–4414.
Yuan, Z., Yin, Y., Qu, J., Zhu, L., and Li, Y. 2007. Population Genetic Diversity in Chinese Pomegranate (*Punica granatum* L.) Cultivars Revealed by Fluorescent-AFLP Markers. *Journal of Genetics and Genomics*. 34(12): 1061-1071.