

## ارزیابی گوناگونی ژنتیکی برخی از ارقام گیلاس ایرانی با استفاده از ویژگی‌های مورفولوژیکی و نشانگر RAPD

### Evaluation of Genetic Diversity in some Iranian Sweet Cherry Cultivars Using some Morphological Characteristics and RAPD Markers

عبدالله خدیوی خوب<sup>۱</sup>، ذبیح الله زمانی<sup>۲</sup>، ناصر بوذری<sup>۳</sup> و محمدرضا فتاحی مقدم<sup>۴</sup>

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشیار و استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج  
۳- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۶/۱۴

#### چکیده

خدیوی خوب، ع.، زمانی، ذ.، بوذری، ن.، و فتاحی مقدم، م. ر. ۱۳۸۸. ارزیابی گوناگونی ژنتیکی برخی از ارقام گیلاس ایرانی با استفاده از ویژگی‌های مورفولوژیکی و نشانگر RAPD. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۵: ۱۹۵-۲۰۹.

ایران دارای تنوع نسبتاً بالایی از درختان گیلاس است. در این مطالعه مقایسه‌ای بین گروه‌بندی‌های حاصل از داده‌های مورفولوژیکی مربوط به ۲۶ صفت میوه و برگ و داده‌های ملکولی حاصل از ۲۳ آغازگر RAPD در ۲۳ رقم گیلاس ایرانی و یک رقم خارجی به عنوان شاهد انجام شد. گروه‌بندی‌های به دست آمده حاصل از این دو روش در بعضی حالات شباهت‌هایی نشان داد ولی بیشتر حالات همدیگر را تایید نکردند، به طوری که میزان همبستگی به دست آمده بین آن‌ها معنی‌دار نشد ( $r=0.22$ ). علت معنی‌دار نشدن این رابطه می‌تواند کافی نبودن داده‌های مورفولوژیکی باشد. نتایج گروه‌بندی حاصل از داده‌های مارکر ملکولی RAPD با نتایج گزارش شده در مورد ناسازگاری ارقام گیلاس مطابقت خوبی نشان داد. همچنین در این مطالعه میزان پلی‌مورفیسم بالایی بدست آمد به طوری که ۲۳ پرایمر به کار رفته در این آزمایش ۸۱/۷ درصد پلی‌مورفیسم نشان دادند. همچنین دامنه تشابه ژنتیکی از حدود ۰/۴۳ تا ۰/۸۱ متفاوت بود. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که تنوع بالایی بین ارقام گیلاس ایرانی وجود دارد و مارکر ملکولی RAPD برای مطالعه تنوع ژنتیکی گیلاس کارایی مطلوبی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: گیلاس، تنوع ژنتیکی، صفات مورفولوژیکی، تجزیه خوشه ای، RAPD.

## مقدمه

ژنتیکی گیاهان با استفاده از روش‌های ملکولی و خصوصیات مورفولوژیکی می‌توان میزان تشابه و تفاوت موجود بین گیاهان را بهتر مورد بررسی قرار داد. نشانگرهائی مانند SSR و AFLP به طور وسیعی برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان به کار می‌روند. نشانگر RAPD نیز روش مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی است (Williams *et al.*, 1990). این نشانگر سریع و ارزان است و تکرارپذیری بالایی دارد. مطالعات متعددی با استفاده از نشانگر RAPD روی درختان میوه انجام شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به مطالعه هلو (Zhongping, 2007)، انار (Sarkhosh *et al.*, 2006) و بادام (Shiran *et al.*, 2007) اشاره کرد.

گرلاچ و استوسر (۱۹۹۸) تنوع ژنتیکی ۱۸ رقم گیلاس را با نشانگر RAPD مورد بررسی قرار دادند. کای و همکاران (Cai *et al.*, 2007) تنوع ژنتیکی را در سطح گونه و رقم در گیلاس با همین نشانگر مورد بررسی قرار دادند. بوذری و همکاران (Bouzari, *et al.*, 2006) تنوع ژنتیکی چند رقم گیلاس را با ایزوزایم‌ها بررسی کردند. در ایران در مورد بررسی تنوع ژنتیکی گیلاس با تکنیک RAPD تاکنون گزارشی منتشر نشده است. هدف از این تحقیق بررسی تنوع و قرابت ژنتیکی برخی از ارقام ایرانی گیلاس با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD و خصوصیات مورفولوژیکی آن بود.

گیلاس یکی از محصولات مهم و تازه‌خوری عمده جهان است که خیلی زود وارد بازار مصرف شده و تولید میوه آن ارزش اقتصادی بالایی دارد. بر اساس آمار FAO در سال ۲۰۰۶، ایران با سطح زیر کشتی معادل ۳۳۳۰۰ هکتار گیلاس در مکان اول جهان و از نظر میزان تولید (۲۲۴۹۰۰ تن) در مکان سوم جهان پس از ترکیه و آمریکا قرار دارد. بر اساس گزارش‌های مختلف گیلاس از نواحی بین قسمت‌های جنوبی دریای خزر و دریای سیاه منشأ گرفته است (Beaver *et al.*, 1995). بیشتر ارقام گیلاس از نظر گرده‌افشانی خودناسازگار یا دگرناسازگار هستند و چندین گروه ناسازگاری در آن‌ها شناسایی شده است. این ناسازگاری باعث افزایش تنوع در ارقام گیلاس شده است. بررسی تنوع ژنتیکی درختان میوه بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی اگرچه با ارزش است و می‌تواند در شناسایی ژنوتیپ‌ها موثر باشد، اما نتایج آن کاملاً دقیق نیست، چون این خصوصیات تحت تاثیر شرایط محیطی و عملیات مختلف باغبانی قرار می‌گیرند (Struss *et al.*, 2001). شناسایی و بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان به طور فزاینده‌ای با استفاده از نشانگرهای مولکولی انجام می‌شود (Lazzoni and Bettin, 1998). این تکنیک‌ها تنوع ژنتیکی را به طور مستقیم در سطح ملکول DNA بررسی می‌کنند و همچنین مشکلات تاثیرپذیری از محیط را ندارند (Gerlach and Stosser, 1997). با بررسی تنوع

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

در این تحقیق ۲۳ رقم گیلاس ایرانی و یک رقم خارجی به عنوان شاهد، از کلکسیون موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر واقع در کمال آباد کرج مورد بررسی قرار گرفتند. این ارقام از نظر ویژگی های مهم میوه با هم تفاوت های بارزی داشتند (جدول ۱). سن این درختان ۱۳ ساله و در مراحل باردهی کامل بودند. پایه این درختان از نوع بذری محلب بود.

### ارزیابی صفات مورفولوژیک

برداشت میوه ها به صورت تصادفی از قسمت های مختلف درختان بر اساس روش پیشنهادی دور (Dever *et al.*, 1996) انجام شد. زمان برداشت میوه هر یک از ارقام براساس زمان رسیدگی آنها در سال های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ بر اساس تغییرات رنگ، ظاهر و مزه میوه آنها تعیین شد. از هر رقم بیست عدد میوه به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. برای اندازه گیری سطح برگ از هر رقم ۱۲ برگ انتخاب شد. در این تحقیق ۲۴ صفت مربوط به میوه و ۲ صفت مربوط به برگ با روش های مناسب هر صفت بررسی شد. برخی صفات به کمک وسایل آزمایشگاهی اندازه گیری شد و بعضی نیز براساس نمره دهی (Rating) و نظرخواهی (Panel test) و کددهی آنها براساس دیسکریپتور گیلاس انجام شد (Schmidt *et al.*, 1985).

### ارزیابی مولکولی

### استخراج DNA

استخراج DNA از نمونه های برگ تازه با استفاده از روش موری و تامسون (Murray and Thompson, 1980) انجام شد. کمیت و کیفیت DNA به دست آمده با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز در ژل آگارز یک درصد تعیین شد و به کمک آنها غلظت یکسان از DNA نمونه ها (۵ نانوگرم در میکرولیتر) آماده شد. برای بررسی واکنش زنجیره ای پلی مراز یکصد آغازگر تصادفی (TIB MOLBIOL, Germany) مورد استفاده قرار گرفت. واکنش زنجیره ای پلی مراز با حجم ۲۵ میکرولیتر شامل بافر واکنش PCR به صورت  $1 \times$   $MgCl_2$  ۱/۷۵mM، dNTPs ۰/۲ mM،  $0.2 \mu M$  از هر آغازگر، ۱ واحد از آنزیم Taq DNA polymerase و ۱mM DNA الگو بود. چرخه های حرارتی شامل  $94^{\circ}C$  برای واسرشت سازی اولیه به مدت چهار دقیقه، تعداد ۳۵ چرخه به صورت  $92^{\circ}C$  به مدت یک دقیقه، دمای اتصال  $37^{\circ}C$  به مدت یک دقیقه و  $72^{\circ}C$  به مدت دو دقیقه برای تکثیر قطعات و در نهایت یک چرخه  $72^{\circ}C$  به مدت ۵ دقیقه برای تکمیل بسط با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر (Bio-Rad, USA مدل i-Cycler) انجام شد. محصولات تکثیر توسط ژل آگارز ۱/۲ درصد تفکیک و با دستگاه ژل داگ (Gel document, UVP, USA) عکس برداری شد.

تجزیه کلاستر داده های مورفولوژیک با استفاده از نرم افزار SPSS و با کمک روش وارد

تکرارپذیری بالا ایجاد کردند مشخص شدند و سپس برای بررسی چندشکلی روی کلیه ارقام به کار رفتند. از تعداد یکصد آغازگر آزمایش شده تعداد ۷۷ آغازگر یا هیچ گونه بانندی تولید نکردند و یا این که باندهای تکثیر شده حاصل از آن‌ها وضوح و قابلیت تکرارپذیری کافی را نداشتند. در نهایت ۲۳ آغازگر برای کار روی همه ارقام انتخاب شدند. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود ۲۳ آغازگر مذکور مجموعاً ۱۸۸ قطعه DNA تولید کردند که از بین آن‌ها ۳۵ قطعه یک شکل بودند و ۱۵۳ قطعه در بین ارقام چندشکلی نشان دادند که حاکی از درصد بالای چندشکلی در بین ارقام مورد مطالعه بود. تعداد قطعات تکثیر شده با آغازگرهای مختلف متفاوت و از ۶ تا ۱۲ عدد متغیر بود (جدول ۳). اندازه قطعات در تمام آغازگرها در محدوده ۳۰۰-۳۵۰۰ جفت باز تخمین زده شد.

نتایج حاصل از ماتریس تشابه بیشترین شباهت (۸۱٪) را بین دو رقم دورگ شماره یک کرج (شماره ۸) و گیلاس شماره ۲۸ (شماره ۱۰) و کمترین شباهت (۳۳٪) را بین رقم ایرانی سفید و قرمز باغ نو (شماره ۶) و رقم خارجی دیررس ایتالیا (شماره ۲۴) نشان داد (جدول ۴). در محاسبه ضریب همبستگی که نشان دهنده همبستگی بین ماتریس تشابه و دندروگرام است، مقدار  $r = 0.84$  به دست آمد که نشان دهنده برازش مناسب ماتریس تشابه و دندروگرام است.

دندروگرام حاصله در حد تشابه ۰/۵۷ ارقام را در هشت گروه قرار داد، به طوری که ۱۵ تای

(Ward) انجام شد. در مورد داده‌های مربوط به RAPD نوارهای چندشکل ارقام به صورت صفر و یک نمره دهی شدند. نرم افزار NTSYS-pc ver. 2.02 برای تخمین شباهت ژنتیکی بر اساس ضریب تشابه جاکارد استفاده شد و ارقام بر اساس روش UPGMA گروه‌بندی شدند.

### نتایج و بحث

اسامی و ویژگی‌های ارقام گیلاس مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است.

### تجزیه مورفولوژیکی

تجزیه کلاستر بر اساس صفات مورفولوژیکی (جدول ۲) در فاصله ۲۵، ارقام را به دو گروه کلی تقسیم کرد (شکل ۱). تعداد ۱۸ رقم با فواصل مختلف از هم در گروه اول قرار گرفتند. گروه دوم شامل شش رقم بود که این ارقام از نظر شکل و اندازه میوه شباهت‌های زیادی به هم داشتند. با کاهش فاصله از ۲۵ به ۱۰، ارقام به چهار گروه اصلی تقسیم شدند. از صفات موثر در این گروه‌بندی می‌توان به اندازه، وزن و شکل میوه، رنگ پوست و رنگ آب میوه اشاره کرد.

### تجزیه ملکولی

برای بررسی چندشکلی DNA بین ارقام گیلاس مورد آزمایش، یکصد آغازگر تصادفی ده نوکلئوتیدی استفاده شد. با بررسی باندهای تولید شده چند شکل روی دو رقم متمایز مجتهدی (شماره ۱) و دیررس ایتالیا (شماره ۲۴) پرایمرهای مناسب که باندهای چندشکل با

جدول ۱- اسامی ارقام گیلاس مورد بررسی و برخی ویژگی‌های مهم آنها

Table 1. Sweet cherry cultivars used in this study and some of their main morphological traits

شماره Number	Cultivar	رقم	Origin	مبدأ	رنگ پوست میوه Fruit color	اندازه میوه Fruit size	شکل میوه Fruit shape
1	Mojtahedi	مجتهدی	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Small	Heart
2	Ghazvin	قزوین	Ghazvin	قزوین	Blackish Red	Large	Heart
3	Ghermeze Rezaeie	قرمز رضائیه	Uromiye	ارومیه	Reddish Yellow	Medium	Heart
4	Zarde Daneshkede	زرد دانشکده	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Large	Heart
5	Gilase Shomare 46	گیلاس شماره ۴۶	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Medium	Globular
6	Sefid va Ghermeze Baghe Nou	سفید و قرمز باغ نو	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Medium	Globular
7	Mahali Karaj	محلی کرج	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Small	Globular
8	Dorage Shomare Yeke Karaj	دورگ شماره یک کرج	Karaj	کرج	Blackish Red	Large	Heart
9	Arak	اراک	Arak	اراک	Reddish Yellow	Small	Globular
10	Gilase Shomare 28	گیلاس شماره ۲۸	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Large	Heart
11	Shoao Saltane	شعاع السلطنه	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Small	Globular
12	Siahe Daneshkade	سیاه دانشکده	Karaj	کرج	Blackish Red	Large	Heart
13	Mashhad	مشهد	Mashhad	مشهد	Blackish Red	Small	Globular
14	Abardeh	ابرد	Mashhad	مشهد	Blackish Red	Medium	Heart
15	Sefide Rezaeie	سفید رضائیه	Uromiye	ارومیه	Cream	Large	Globular
16	Meshkinshahr	مشکین شهر	Azarbajejan	آذربایجان	Black	Small	Globular
17	Soorati Lavasan	صورتی لواسان	Lavasan	لواسان	Reddish Yellow	Medium	Heart
18	Rafat	رافت	Unkown	نامعلوم	Reddish Yellow	Large	Heart
19	Haj Yosefi	حاج یوسفی	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Large	Globular
20	Siahe Mashhad	سیاه مشهد	Mashhad	مشهد	Blackish Red	Large	Heart
21	Hamedan	همدان	Hamedan	همدان	Reddish Yellow	Small	Globular
22	Ghermeze Baghe Nou	قرمز باغ نو	Karaj	کرج	Reddish Yellow	Medium	Globular
23	Siahe Zoodres	سیاه زودرس	Mashhad	مشهد	Blackish Red	Large	Globular
24	Italya Late	دیپرس ایتالیا	Italy	ایتالیا	Blackish Red	Large	Heart

\*: Fruit size based on fruit dimension (length, width and diameter) and fruit weight .

\*: اندازه میوه بر اساس ابعاد میوه (طول، عرض و قطر) و وزن میوه.  
Heart: قلبی شکل، Globular: گرد.

جدول ۲- صفات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده برای میوه و برگ ۲۳ رقم گیلاس ایرانی و یک رقم

خارجی

Table 2. Morphological characters of fruits and leaves scored for 23 Iranian and a foreign cultivars

Character	صفت	میانگین Mean	حداقل Min	حداکثر Max	واحد Unit
Fruit weight	وزن میوه	5.10	2.65	5.85	g
Stone weight	وزن هسته	0.36	0.24	0.50	g
Fruit length	طول میوه	18.74	14.78	21.33	mm
Fruit width	عرض میوه	19.22	7.15	21.49	mm
Fruit diameter	قطر میوه	16.72	12.36	19.43	mm
Fruit stalk length	طول دم میوه	41.55	35.23	59.44	mm
Fruit stalk weight	وزن دم میوه	0.09	0.06	0.14	g
Stone shape	شکل هسته	5.26	3.00	7.00	Code
Stone size	اندازه هسته	5.10	3.00	7.00	Code
Skin cracking	میزان ترکیدگی میوه	4.28	3.00	5.00	Code
Fruit shape	شکل میوه	2.36	1.00	5.00	Code
Fruit size	اندازه میوه	5.62	1.00	9.00	Code
Fruit doubled	دوقلو زایی میوه	3.26	1.00	7.00	Code
Titrate acidity	اسیدیته قابل تیتراسیون	0.29	0.21	0.44	%
Fruit juice color	رنگ آب میوه	3.82	1.00	6.00	Code
Fruit skin color	رنگ پوست میوه	4.21	1.00	6.00	Code
Fruit flesh firmness	سفتی میوه	5.10	3.00	7.00	Code
Fruit stalk leaves	تعداد برگ متصل به دم میوه	5.21	3.00	7.00	Code
Stone type	نوع هسته	2.03	1.00	4.00	Code
Eating quality	کیفیت خوراکی میوه	6.46	4.00	9.00	Code
pH	اسیدیته	3.84	3.44	4.22	-
Total soluble solids	مواد جامد محلول	12.57	6.5	21.00	%
Anthocyanin Index	شاخص آنتوسیانین	0.28	0.024	1.88	O.D. 510nm
Fruit flesh color	رنگ گوشت میوه	2.69	1.00	7.00	Code
Shoot leaf area	سطح برگ شاخه	4494.63	2654.17	6627.95	mm <sup>2</sup>
Spur leaf area	سطح برگ اسپوری	2754.30	1632.25	4185.50	mm <sup>2</sup>

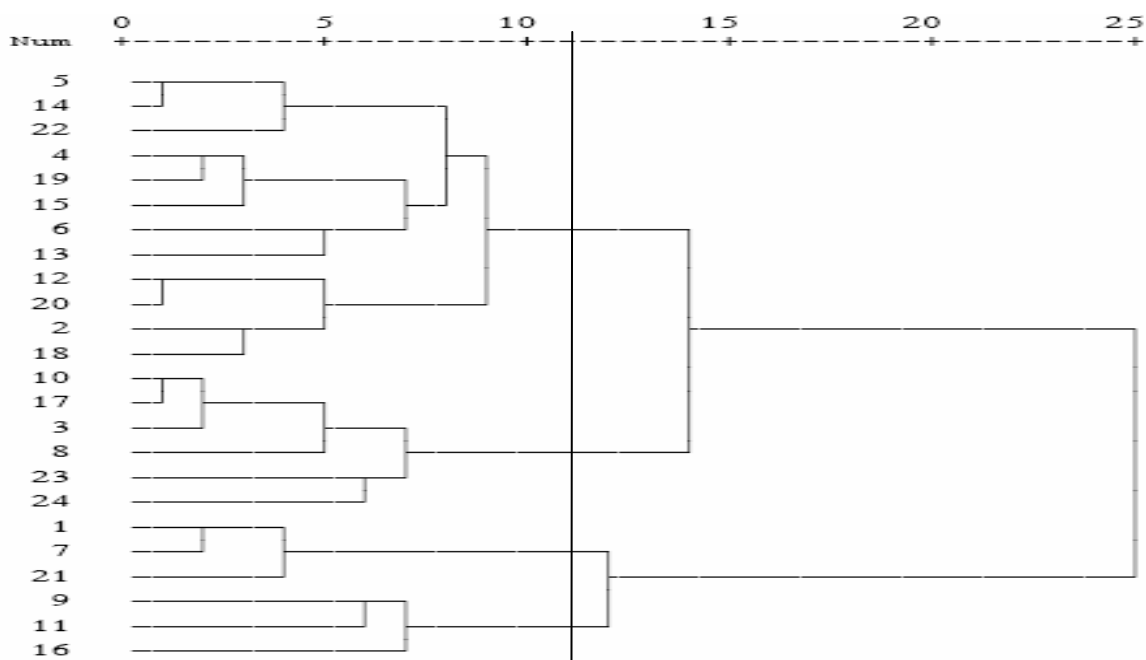
جدول ۳- آغازگرهای تصادفی ده نوکلئوتیدی RAPD مورد استفاده برای تعیین تنوع ژنتیکی ۲۳ رقم گیلاس ایرانی و یک رقم خارجی و درصد چندشکلی حاصل از آنها

Table 3. List of the primers showing polymorphism on 23 Iranian and a foreign sweet cherry cultivars and their degree of polymorphism

پرایمر	توالی	کل باندها (a)	باندهای چند شکل	درصد چند شکلی
Primer	Sequence 5' → 3'	Total of bands (a)	(b) Polymorphic bands (b)	(b/a-100) Polymorphic % (b/a×100)
TIBMBA-06	GGACGACCGT	8	7	87.5
TIBMBA-08	CCACAGCCGA	7	5	71.4
TIBMBA-09	GGA ACTCCAC	7	4	57.1
TIBMBA-13	AGGGCGAATG	8	6	75.0
TIBMBA-16	CCACGCATCA	7	5	71.4
TIBMBA-20	GAGCGCTACC	6	5	83.3
TIBMBA-05	GGGCCGAACA	8	5	62.5
TIBMBA-09	AGGCCGGTCA	10	8	80.0
TIBMBA-17	ACACCGTGCC	8	6	75.0
TIBMBA-04	CCACGTGCCA	12	12	100.0
TIBMBA-08	GGTCTTCCCT	7	7	100.0
TIBMBA-12	CCTCCACCAG	9	8	88.8
TIBMBA-18	GTGAAGGAGG	6	5	83.3
TIBMBA-19	ACAAGCGCGA	6	6	100.0
TIBMBA-20	AGCACTGGGG	11	10	90.9
TIBMBA-01	TCACTCGCTC	8	7	87.5
TIBMBA-03	GAGCCCCGAA	7	7	100.0
TIBMBA-09	CCACGGTCAG	7	6	85.7
TIBMBA-16	GA ACTCCCAG	6	6	100.0
TIBMBA-17	GTTCGCTCCC	11	4	63.3
TIBMBA-04	CCCAAGGGAA	10	9	90.0
TIBMBA-08	GGGAAGCGTC	11	10	90.9
TIBMBA-17	GGGAAAAGCC	8	5	62.5
Total	-	188	153	-
Mean	-	8.17	6.65	81.7

شماره ۲۸)، که این می تواند ناشی از اشتباه در نامگذاری ارقام باشد. همچنین احتمال دارد انتقال برخی از ارقام از یک منطقه به منطقه دیگر با تغییر در نام آنها باشد، اگرچه، دارا بودن والدین

آنها در یک گروه و بقیه در گروه های چندتایی قرار گرفتند (شکل ۲). در حالتی این ارقام در حد تشابه بالایی با هم در یک دسته قرار گرفتند (مثل دورگ شماره یک کرج و گیلاس



شکل ۱- گروه بندی ۲۳ رقم ایرانی و یک رقم خارجی گیلاس مورد بررسی بر اساس صفات مورفولوژیکی به روش Ward (شماره ارقام مطابق جدول ۱)

Fig. 1. Dendrogram of 23 Iranian and a foreign sweet cherry cultivars based on morphological data with Ward method (Numbers represent cultivars according to Table 1)

رضائیه (شماره ۱۵) و رقم خارجی دیررس ایتالیا (شماره ۲۴) با رقم سیاه مشهد (شماره ۲۰) از نظر گرده افشانی سازگارند (Rasouli, 2006; Seifi and Arzani, 1998)؛ در بررسی حاضر نیز این ارقام در گروه های متفاوتی از رقم سیاه مشهد قرار گرفتند که نشان از شباهت کمتر ژنتیکی آنها با این رقم می باشد.

بررسی چگونگی سازگاری ارقام ابرده (شماره ۱۴) با رقم حاج یوسفی (شماره ۱۹) مشخص کرده است که این دو رقم با یکدیگر ناسازگاری دارند (Asghari, 2003). در این تحقیق نیز این دو رقم در یک گروه قرار گرفته اند.

مشترک نیز برای آنها دور از انتظار نیست. رقم خارجی دیررس ایتالیا در حد تشابه ۰/۴۳ از ارقام ایرانی جدا شد که نشان از تشابه ژنتیکی کم و منشاء جغرافیایی متفاوت آن با ارقام ایرانی است. با توجه به این علت اصلی دگرگرفته افشانی گیلاس ناسازگاری است که مربوط به آلل های S مشابه است، برخی از ارقام آن به دلیل شباهت آلل های S با هم ناسازگار هستند و از این نظر در گروه های ناسازگار با هم قرار می گیرند. به عبارت دیگر اگر دو رقم از نظر گرده افشانی با هم ناسازگار باشند در یک گروه ناسازگار قرار می گیرند. بر اساس گزارش های موجود ارقام مجتهدی (شماره ۱)، زرد دانشکده (شماره ۴)، سفید



ارقام سیاه مشهد و سیاه دانشکده با ارقام مذکور باشد. با توجه به این مطالعات در مورد ناسازگاری می توان گفت که گروه بندی مطالعه حاضر تا حدود زیادی با سیستم ناسازگاری گرده افشانی ارقام گیلاس مطابقت نشان داد. بنابراین می توان به کمک مارکر ملکولی RAPD موضوع ناسازگاری گرده افشانی را نیز در گیلاس مورد بررسی قرار داد.

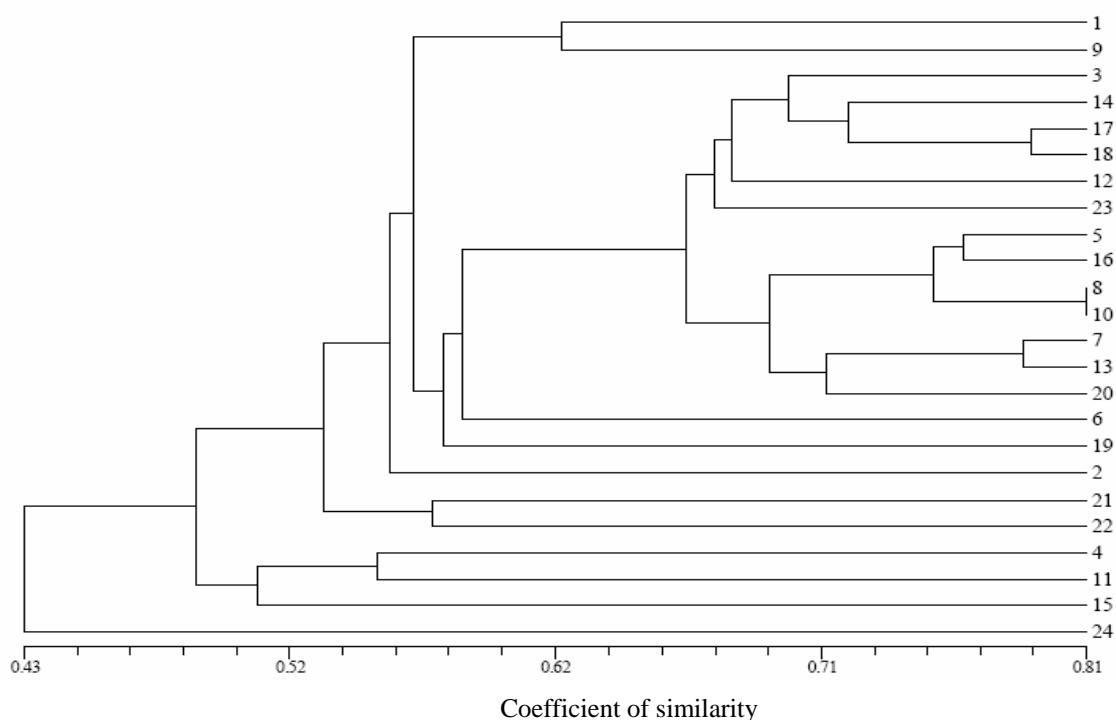
در تحقیق حاضر به دلیل این که اطلاعات کاملی از صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی ارقام در دسترس نبود کلاستر بندی بر اساس صفات مورفولوژیکی با استفاده از داده های مرتبط به میوه و برگ انجام شد. بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گیلاس که با استفاده از نشانگر RAPD انجام شد وضعیت ژنتیکی آنها را مشخص کرد. اگر چه گروه بندی بر اساس صفات کمی و کیفی ارقام را در درجه اول به دو گروه تقسیم بندی کرد اما اطلاعات حاصله از RAPD تفکیک متفاوتی نشان داد و لذا به نظر می رسد تفاوت های مورفولوژیکی مشاهده شده در این پژوهش در سطح ژنتیکی و در مقایسه با RAPD کارایی لازم را نداشته است.

در گروه بندی بر اساس داده های مورفولوژیکی ارقام گیلاس شماره ۴۶ (شماره ۵)، ابرده (شماره ۱۴)، قرمز باغ نو (شماره ۲۲)، زرد دانشکده (شماره ۴)، حاج یوسفی (شماره ۱۹)، سفید رضائیه (شماره ۱۵)، سفید و قرمز باغ نو (شماره ۶)، مشهد (شماره ۱۳)، سیاه دانشکده (شماره ۱۲)، سیاه مشهد (شماره ۲۰)، قزوین

سازگاری ارقام صورتی لواسان (شماره ۱۷) و حاج یوسفی (شماره ۱۹) با قرمز رضائیه (شماره ۳) نیز مورد بررسی قرار گرفته و مشخص گردیده است که این ارقام با رقم قرمز رضائیه ناسازگاری دارند (Ghoharkhay, 1944; Mahmoudi, 2005). در این تحقیق هم این ارقام با رقم قرمز رضائیه در یک گروه قرار گرفتند که نشان می دهد دارای آلل S مشترک هستند.

در پژوهش دیگری سازگاری رقم سفید رضائیه (شماره ۱۵) با رقم زرد دانشکده (شماره ۴) مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این دو رقم با هم سازگارند (Rasouli, 2006). در این تحقیق هم این دو رقم در گروه جداگانه از هم قرار گرفتند.

مطالعه آلل های خودناسازگاری در برخی ارقام گیلاس با استفاده از تکثیر اختصاصی آلل ها به روش PCR معلوم کرده است که ارقام قرمز رضائیه (شماره ۳)، ابرده (شماره ۱۴) و حاج یوسفی (شماره ۱۹) دارای آلل های  $S_3S_4$  بوده و در یک گروه ناسازگاری قرار می گیرند (Hasani Moghadam, 2006). در مطالعه حاضر هم این ارقام در یک گروه قرار گرفتند. در آن مطالعه معلوم شد که یکی از آلل های ارقام سیاه مشهد (شماره ۲۰) و سیاه دانشکده (شماره ۱۲)  $S_3$  بوده ولی آلل دیگر آنها مشخص نشد (Hasani Moghadam, 2006). در مطالعه حاضر این دو رقم با ارقامی که دارای آلل  $S_3S_4$  بودند در یک گروه قرار گرفتند که احتمال داده می شود حاکی از شباهت آلل دیگر ناسازگاری



شکل ۲- دندروگرام حاصل از داده های نشانگرهای RAPD مربوط به ۲۳ رقم ایرانی و یک رقم خارجی گیلاس مورد آزمایش به روش UPGMA (شماره ارقام مطابق جدول ۱)

Fig. 2. UPGMA dendrogram of 23 Iranian and a foreign sweet cherry cultivars based on RAPD primers (Numbers represent cultivars according to Table 1)

قرار گرفتند. از صفات موثر در گروه‌بندی این ارقام وزن دم میوه، شکل میوه، میزان سفتی میوه، طول دم میوه، TSS و pH است. در گروه‌بندی براساس داده های RAPD رقم دیررس ایتالیا در یک گروه جداگانه و با فاصله زیاد از بقیه قرار گرفت و همه ارقام ایرانی در یک گروه قرار گرفتند که مبین شباهت ژنتیکی کم و منشاء جغرافیایی متفاوت آن با ارقام ایرانی است. در این حالت می توان بیان کرد آنالیز RAPD و داده‌های مورفولوژیکی تطابق نسبی داشته‌اند. در گروه‌بندی براساس داده‌های مورفولوژیکی

(شماره ۲) و رافت (شماره ۱۸) در یک گروه قرار گرفتند. در گروه‌بندی براساس داده های RAPD ارقام قرمز باغ نو، زرد دانشکده، سفید رضائیه و قزوین جدا از بقیه ارقام ذکر شده و خود نیز در گروه‌های جداگانه قرار گرفتند. در گروه‌بندی براساس داده‌های مورفولوژیکی، ارقام گیلاس شماره ۲۸ (شماره ۱۰)، صورتی لواسان (شماره ۱۷)، قرمز رضائیه (شماره ۳)، دورگ شماره یک کرج (شماره ۸)، سیاه زودرس (شماره ۲۳) و رقم خارجی دیررس ایتالیا (شماره ۲۴) در یک گروه

خصوصیات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی به دست خواهد آمد. در مطالعات مختلفی نتایج مارکرهای ملکولی و مورفولوژیکی با هم مقایسه شده‌اند و همبستگی بین این دو روش را پایین گزارش کرده‌اند (Sarkhosh *et al.*, 2006; Semagn, 2002; Vollmann *et al.*, 2005; Kjar *et al.*, 2004). Semagn (2002) دو دلیل را برای همبستگی نتایج مورفولوژیکی و مولکولی اعلام کرده است. اول این که مارکرهای ملکولی نسبت به مارکرهای مورفولوژیکی بخش بزرگ‌تری از ژنوم را پوشش می‌دهند که شامل نواحی کدشونده و نواحی غیرکدشونده است. دوم این که مارکرهای ملکولی در مقایسه با مارکرهای مورفولوژیکی تحت تاثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرند.

نتیجه مناسبی که از این تحقیق به دست آمد سطح چند شکلی بالا بین ارقام ایرانی گیلاس بود. در بررسی کای و همکاران (۲۰۰۷) در مورد تنوع ژنتیکی برخی گونه‌ها و ارقام گیلاس با استفاده از RAPD مقدار ۶۷/۷۴ درصد پلی مورفیسم به دست آمد. گرلاچ و استوسر (۱۹۹۸) هم با بررسی تنوع ژنتیکی ارقام گیلاس با استفاده از RAPD مقدار ۵۵ درصد پلی مورفیسم مشاهده کردند. در حالی که در مطالعه حاضر مقدار ۸۲ درصد پلی مورفیسم به دست آمد. با توجه به دامنه وسیع ضریب تشابه ژنتیکی (۰/۴۳-۰/۸۱) بین ارقام گیلاس ایرانی می‌توان گفت که تنوع بین ارقام مورد مطالعه قابل توجه بوده است.

ارقام مجتهدی (شماره ۱)، محلی کرج (شماره ۷)، همدان (شماره ۲۱)، اراک (شماره ۹)، شعاع السلطنه (شماره ۱۱) و مشکین شهر (شماره ۱۶) در یک گروه قرار گرفتند. این ارقام از نظر شکل و اندازه میوه با هم شباهت داشتند. ارقام مجتهدی، محلی کرج، همدان، اراک و شعاع السلطنه از نظر رنگ پوست و رنگ آب میوه و اسیدیته شباهت‌های زیادی داشتند. در گروه‌بندی براساس داده‌های RAPD ارقام مجتهدی و اراک در یک گروه، محلی کرج و مشکین شهر هم در یک گروه و بقیه ارقام در گروه‌های مستقل قرار گرفتند. در این مورد هم گروه‌بندی حاصله از داده‌های مورفولوژیکی و RAPD تا حدودی همدیگر را تایید کردند.

در این مطالعه در بعضی حالات شباهت‌هایی بین کلاستر بندی بر اساس داده‌های مورفولوژیکی و کلاستر بندی بر اساس داده‌های RAPD مشاهده شد و در بعضی حالات هم تفاوت‌های بارزی با هم داشتند، به طوری که میزان همبستگی آن‌ها ( $r = 0.22$ ) معنی دار نشد (جدول ۴). با توجه به این که نشانگر RAPD می‌تواند کل ژنوم را پوشش دهد و چندشکلی آنرا بررسی کند (Kumar, 1999; Willims *et al.*, 1990)، می‌توان نتیجه گرفت که خصوصیات میوه که توسط مکان‌های محدودی از ژنوم کنترل می‌شود نتوانسته است با نشانگر RAPD تطابق نشان دهد. چنانچه داده‌های مورفولوژیکی با اطلاعات بیشتری از مورفولوژی برگ، گل، میوه و کل درخت حاصل شود همبستگی بیشتری بین

جدول ۴- ضرایب تشابه حاصل از داده های نشانگرهای RAPD بین ۲۳ رقم ایرانی و یک رقم خارجی گیلاس

Table 4. Similarity coefficient among 23 Iranian and a foreign sweet cherry cultivars based on RAPD primers

شماره رقم Cultivar No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1	-																									
2	0.54	-																								
3	0.59	0.0.67	-																							
4	0.53	0.39	0.50	-																						
5	0.54	0.59	0.59	0.43	-																					
6	0.42	0.56	0.61	0.46	0.66	-																				
7	0.58	0.55	0.64	0.50	0.66	0.56	-																			
8	0.58	0.54	0.65	0.47	0.72	0.61	0.67	-																		
9	0.62	0.50	0.52	0.44	0.62	0.47	0.62	0.67	-																	
10	0.55	0.55	0.69	0.43	0.76	0.62	0.68	0.81	0.62	-																
11	0.44	0.36	0.48	0.55	0.58	0.55	0.57	0.59	0.49	0.67	-															
12	0.58	0.56	0.67	0.41	0.65	0.58	0.66	0.65	0.56	0.73	0.53	-														
13	0.53	0.54	0.59	0.46	0.71	0.57	0.78	0.72	0.60	0.79	0.65	0.68	-													
14	0.55	0.59	0.68	0.48	0.63	0.54	0.63	0.66	0.58	0.68	0.51	0.63	0.69	-												
15	0.45	0.41	0.45	0.48	0.48	0.43	0.50	0.47	0.47	0.53	0.55	0.50	0.53	0.52	-											
16	0.57	0.59	0.64	0.45	0.76	0.59	0.63	0.75	0.61	0.77	0.55	0.65	0.73	0.73	0.50	-										
17	0.58	0.55	0.69	0.46	0.61	0.62	0.70	0.67	0.56	0.72	0.57	0.70	0.70	0.69	0.51	0.68	-									
18	0.64	0.59	0.73	0.51	0.65	0.57	0.67	0.72	0.62	0.80	0.57	0.71	0.73	0.76	0.52	0.70	0.79	-								
19	0.53	0.51	0.50	0.46	0.67	0.50	0.57	0.52	0.52	0.58	0.47	0.51	0.63	0.62	0.49	0.64	0.56	0.60	-							
20	0.54	0.54	0.57	0.42	0.67	0.53	0.68	0.65	0.62	0.72	0.53	0.66	0.75	0.64	0.52	0.69	0.68	0.72	0.57	-						
21	0.42	0.44	0.46	0.37	0.57	0.45	0.57	0.51	0.49	0.57	0.50	0.51	0.62	0.50	0.41	0.58	0.57	0.56	0.49	0.06	-					
22	0.45	0.43	0.50	0.43	0.60	0.46	0.60	0.63	0.52	0.60	0.54	0.52	0.65	0.56	0.52	0.60	0.52	0.59	0.49	0.57	0.57	-				
23	0.51	0.54	0.62	0.44	0.61	0.57	0.61	0.60	0.52	0.64	0.48	0.68	0.65	0.70	0.487	0.65	0.64	0.72	0.61	0.62	0.53	0.52	-			
24	0.54	0.41	0.49	0.30	0.38	0.33	0.50	0.40	0.37	0.45	0.35	0.48	0.48	0.47	0.37	0.50	0.50	0.51	0.37	0.43	0.40	0.35	0.47	-		

For cultivar names see Table 1.

برای نام ارقام به جدول ۱ مراجعه شود.

گیلاس خواهد کرد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از مسئولین موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به خاطر فراهم کردن نمونه‌های گیاهی مورد بررسی تشکر می‌شود.

با توجه به نتایج به دست آمده، تکنیک RAPD برای تخمین تنوع ژنتیکی گیلاس مناسب به نظر می‌رسد، ولی استفاده از نشانگرهای کارایی همچون SSR و AFLP همراه با اطلاعات بیشتری از خصوصیات مورفولوژیکی این گیاه همچون خصوصیات خود درخت، برگ، گل و میوه کمک بیشتری در تفکیک و گروه‌بندی ارقام

### References

- Arzani, K. 1988.** Selection of the best pollinizer for Siahe Mashhad sweet cherry cultivar. MSc. Thesis, College of Agriculture, University of Tehran, Iran (in Farsi).
- Asghari, H. 2003.** Study of incompatibility and pollen tube growth in some sweet cherry cultivars with Haj Yousefi cultivar. MSc. Thesis, College of Agriculture, Tarbiat Modarres, University, Tehran, Iran (in Farsi).
- Beaver, J. A., Iezzoni, A. F., and Ramm, C. W. 1995.** Isozyme diversity in sour, sweet and ground cherry. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 847-852.
- Bouzari, N., Ebrahimzadeh, H., and Arzani, K. 2006.** A study of genetic diversity with the use of protein markers in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 73: 389-396 (in Farsi).
- Cai, Y. L., Cao, D. W., and Zhao, G. F. 2007.** Studies on genetic variation in cherry germplasm using RAPD analysis. *Scientia Horticulture* 111: 248-254.
- Dever, M.C., Macdonald, R.A., Chiff, M.A. and Lane, W.D. 1996.** Sensory evaluation of sweet cherry cultivars. *HortScience* 31: 150-153.
- Gerlach, H. K., and Stosser, R. 1998.** Sweet cherry cultivar identification using RAPD-derived DNA fingerprints. *Acta Horticulturae* 468: 63-69.
- Goharkhay, S. 1994.** Investigation and selection of suitable polinizer for four commercial cherry cultivars. *Seed and Plant* 9 (3&4): 30-34 (in Farsi).
- Hasani Moghadam, E. 2006.** Identification of S-Alleles in sweet cherry cultivars by Allel-Specific PCR amplification. MSc. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran (in Farsi).
- Kjar, A., Barfod, S. A, Asmussen, C. B., and Sebeig, O. 2004.** Investigation of genetic and morphological variation in the Sago palni (*Metroxylon sagu*; *Arecaceae*) in Papua New Guinea. *Annals of Botany* 94: 109-117.

- Kumar, L.S. 1999.** DNA markers in plant importantment: An overview. *Biotech. Advan.* 17:143-182.
- Lozzoni, A. F., and Brettin, T. S. 1998.** Utilization of molecular genetics in cherry. *Acta Horticulturae* 498: 53-62.
- Mahmoudi, A. 2005.** Study of compatibility of some sweet cherry cultivars with Ghermeze Rezaeye, MSc. Thesis, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran (in Farsi).
- Murray, M. G., and Thammson, W. F. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acid Research* 8: 4321-4325.
- Rasouli, M. 2006.** Study of compatibility of some Iranian sweet cherry cultivars with Zarde Daneshkade. MSc. Thesis, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran (in Farsi).
- Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fattahi R., and Ebadi, A. 2006.** RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Scientia Horticulturae* 111: 24-29.
- Seifi, A., and Arzani, K. 1998.** Study of compatibility of some Iranian sweet cherry cultivars with Siahe Mashhad sweet cherry cultivar. *Seed and Plant* 14: 34-37 (in Farsi).
- Schmidt, H., Christensen, J. V., Watkins, R., and Smith, R.A. 1985.** Cherry Descriptor List. CEC Secretariat, Brussels.
- Semagn, K. 2002.** Genetic relationships among ten endod types as revealed by a combination of morphological, RAPD and AFLP markers. *Hereditas* 137: 149-156.
- Shiran, B., Amirbakhtiar, N., Kiani, S., Mohammadi, SH., Sayed-Tabatabaei, B. E., and Moradi, H. 2007.** Molecular characterization and genetic relationship among almond cultivars assessed by RAPD and SSR markers. *Scientia Horticulturae* 111: 280-292.
- Struss D., Boritzki, M., Glozer, K., and Southwick, S.M. 2001.** Detection of genetic diversity among population of sweet cherry. *Horticultural Science and Biotechnology* 76: 362-367.
- Vollmann, J., Grausgnxber, H., Stiff, G., Dryzhynik, V., and Lelley. T. 2005.** Genetic diversity in camelina germplasm as revealed by seed quality characteristics and RAPD polymorphism. *Plant Breeding* 124: 446-453.

- Williams, J. G. K., Kubelik, A. E., Livak, K. J., Rafaiski, J. A., and Tingey, S. C. 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acid Research* 18: 6531-6536.
- Zhongping, C. 2007.** Genetic characterization of different demes in *Prunus persica* revealed by RAPD markers. *Scientia Horticulturae* 111: 242-247.

