

تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم انار ترش ایران (*Punica granatum L.*) بر اساس نشانگرهای ریزماهوره

## Genetic Diversity of Iranian Sour Pomegranate (*Punica granatum L.*) Germplasm Based on Microsatellite Markers

مهربانو کاظمی الموتی<sup>۱</sup>، محمدعلی ابراهیمی<sup>۲</sup>، مهرشاد زین‌العابدینی<sup>۳</sup>، محسن مردی<sup>۴</sup>،  
طه رودبار شجاعی<sup>۵</sup>، مریم پژمان مهر<sup>۵</sup> و هاشم پورایراندوست<sup>۵</sup>

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه پیام نور، تهران  
۳، ۴ و ۵- به ترتیب استادیار، دانشیار و محقق، پژوهشکده بیوتکنولوژی ایران، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۶/۳۰

### چکیده

کاظمی الموتی، م.، ابراهیمی، م. ع.، زین‌العابدینی، م.، مردی، م.، رودبار شجاعی، ط.، پژمان مهر، م. و پورایراندوست، ه. ۱۳۹۲. تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم انار ترش ایران (*Punica granatum L.*) بر اساس نشانگرهای ریزماهوره. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۹: ۱۹۷-۱۷۹

در این مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران موجود در کلکسیون انار یزد با استفاده از نشانگرهای ریزماهوره بررسی شد. تجزیه خوشه‌بندی با روش‌های UPGMA و NJ، با استفاده از نرم‌افزار Mega4، و تجزیه ساختار با روش Bayesian با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.2 و تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) با نرم‌افزار Ntsys، به منظور بررسی روابط ژنتیکی و ساختار جمعیت ژنوتیپ‌ها انجام شد. آغازگرهای SSR-MP26 و SSR-MP39 به ترتیب با ۰/۹۰۷ و ۰/۵۴۴ بیشترین و کمترین PIC را نشان دادند. بررسی نتایج تمامی روش‌های ذکر شده نشان داد که طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مستقل از منشا جغرافیایی و نام‌گذاری پیشنهادشان بود. نتایج این بررسی نشان داد که کلکسیون انار یزد ممکن است حاوی ژنوتیپ‌های متفاوت با اسامی مشابه و یا ژنوتیپ‌های یکسان با اسامی متفاوت باشد که ضروری است با تحقیقات بیشتر مورد تایید قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: انار، تنوع ژنتیکی، نشانگر ریزماهوره (SSR).

## مقدمه

انار با نام علمی *Punica granatum* L. از شاخه پیدازادان و رده نهاندانگان است که به کوچک‌ترین خانواده گیاهی دولپه‌ای‌ها (Punicaceae) تعلق دارد (Awamleh et al., 2009). از این تیره در ایران، فقط گونه *Punica granatum* وجود دارد که انارهای معمولی و یا خوراکی در این گونه قرار داشته و بومی ایران و نواحی مدیترانه هستند، بنابراین ایران خاستگاه اصلی و مرکز تنوع گونه *Punica granatum* به‌شمار می‌رود (Stover and Mercure, 2007). بر اساس گزارش رشینگر و همکاران (Rechinger et al., 1966)، مراکز عمده پراکنش انار در ایران، عراق، افغانستان، ترکمنستان و پاکستان قرار دارد. امروزه ارقام خوراکی انار در اکثر نقاط دنیا به ویژه اسپانیا، یونان، مراکش، افغانستان، هندوستان، چین، ژاپن، ترکمنستان و ازبکستان کشت می‌شود و ایران از نظر سطح کشت تجاری، مرغوبیت ارقام و میزان تولید انار، رتبه اول جهان را در اختیار دارد (Vezvaei, 1988).

اجرای موفق یک پروژه به‌نژادی، به میزان آگاهی از وجود تنوع ژنتیکی در داخل و بین جمعیت‌های گونه گیاهی بستگی دارد. مسئله مهم در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مختلف، میزان و الگوی تنوع ژنتیکی در داخل گونه‌ها است (Butlin and Tregenza, 1998). پیرامون جنس *Punica* که در برگیرنده انار

زراعی است، تنوع گونه‌ای کمی مشاهده می‌شود، اما تنوع مورفولوژیکی بسیار بالایی در داخل ارقام و ژنوتیپ‌های موجود در ایران مشاهده می‌شود. از آن جا که انار زراعی گونه دیپلوئید بوده و تولید مثل آن عمدتاً به روش غیرجنسی انجام می‌شود، وجود تنوع ژنتیکی در کلون‌های بومی و تجاری این گیاه، همواره از مهم‌ترین سئوالات محققان بوده است (Behzadi Shahrabaki, 1998). روش‌های قدیمی شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌ها بر مبنای مشاهدات فنوتیپی بوده که به دلیل دوره رشد طولانی درختان میوه و قرار داشتن در معرض تغییرات محیطی، این روش‌ها خیلی قابل اتکا نیستند. امروزه، تعیین اصالت ژنتیکی محصولات باغی از سطح مورفولوژی و فنولوژی فراتر رفته و به وسیله روش‌های نوین زیست فناوری در سطح ژنوتیپ گیاه انجام می‌شود. در حال حاضر با به‌کارگیری همزمان اطلاعات ژنوتیپی و فنوتیپی امکان تعیین دقیق هویت ارقام مهم باغی کشور میسر شده است. مشارکت روش‌های جدید در برنامه‌های شناسایی ارقام، فرآیند شناسایی به وسیله انگشت‌نگاری هر ژنوتیپ را در هر مرحله رشدی و به‌طور مستقل از فاکتورهای محیطی تسریع می‌کند. بنابراین، با توجه به این که اغلب گونه‌های درختان میوه به صورت رویشی تکثیر می‌شوند، شناسایی ژنوتیپ‌ها در مراحل مختلف رشد با استفاده از روش‌های نوین، امکان ارزیابی ژرم‌پلاسم و ایجاد مرجعی قابل اتکا به منظور استفاده در

و همکاران (Sarkhosh *et al.*, 2006) با استفاده از نشانگرهای RAPD، سطح تنوع موجود بین ۲۴ ژنوتیپ انار ایرانی را بررسی کردند. بالاترین و پائین ترین شباهت‌ها بین ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۰/۸۹ و ۰/۲۹ بود و در تشابه ۶۰٪ ژنوتیپ‌ها به چهار زیر شاخه تقسیم شدند. در حال حاضر، نشانگرهای ریزماهوره‌ها به دلیل پوشش مناسب ژنومی و تکرارپذیری بالا یکی از بهترین و کامل ترین ابزارهای مولکولی در بررسی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های بسیار نزدیک به هم به شمار می‌آیند. ریزماهوره‌ها توالی‌های ۱ تا ۶ نوکلئوتیدی هستند که در ژنوم تمام پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها وجود دارند. این توالی‌ها عموماً از چندشکلی بالایی برخوردارند و در نواحی کدکننده و غیرکدکننده ژنوم موجودات مختلف وجود دارند (Zane *et al.*, 2002; Karp *et al.*, 1997).

هدف از این تحقیق، ارزیابی کارایی نشانگرهای ریزماهوره جداشده از گونه *Punica granatum* در بررسی تنوع و روابط ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های انار ترش ایران شامل ارقام زینتی، وحشی و خوراکی و نیز ارزیابی دقیق ژنوتیپ‌های موجود به منظور شناسایی نمونه‌های تکراری و ارائه پیشنهاد جهت احداث کلکسیون پایه بود.

### مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق

برنامه‌های به‌نژادی مختلف را فراهم می‌کند. بدین منظور مطالعات متعددی در انار توسط محققان مختلف و به کمک نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی متفاوت انجام شده است.

اکرامی و همکاران (Akrami *et al.*, 2004)، در تحقیقی مهم‌ترین خصوصیات ارقام انار موجود در کلکسیون ساوه را مورد بررسی قرار دادند. غربال اولیه بر اساس خصوصیات طبیعی مهم از جمله رنگ پوست قرمز، دانه قرمز با مزه ملس و ارقام پوست قرمز، دانه قرمز با مزه شیرین و ارقام پوست قرمز، دانه قرمز با مزه ملس، ارقام پوست سیاه و ارقام بی‌هسته (نرم دانه) مشخص شد. رحیمی و همکاران (Rahimi *et al.*, 2005)، روابط ژنتیکی یازده ژنوتیپ کاملاً نزدیک انار ایران را با استفاده از نشانگرهای AFLP مورد ارزیابی قرار دادند. بیشترین شباهت بین ارقام دبه‌ای بم و دخترحمومی (۷۱/۹ درصد) و کمترین شباهت بین ارقام پوست سیاه و آمنه خاتونی (۲۰/۳ درصد) وجود داشت. زمانی و همکاران (Zamani *et al.*, 2007)، به مطالعه همبستگی بین صفات کمی و کیفی میوه انار و تجزیه و تحلیل فاکتور آن‌ها پرداختند. تجزیه کلاستر با استفاده از هفت عامل اصلی ژنوتیپ‌ها را به پنج کلاستر تقسیم کرد. موقعیت ژنوتیپ‌ها در تجزیه تری‌پلات با استفاده از سه فاکتور نیز موجب تفکیک ژنوتیپ‌های با طعم شیرین از ژنوتیپ‌های با طعم ملس و ملس شد. سرخوش

آمید ۶ درصد و با کمک دستگاه DNA Analyser 4300) تفکیک و ارزیابی شدند. آلل‌های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره به صورت صفر و یک (یک برای مشاهده آلل و صفر در صورت عدم مشاهده آلل) امتیازدهی شدند و ارزیابی شاخص‌های تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای و ساختار جمعیت به کمک نرم‌افزارهای PowerMarker 3.25، Structure 2.3 و Splitstree 4.11.3 انجام شد. به منظور انتخاب آغازگرهایی با کارایی بالا، آغازگر ریزماهواره‌ای که از ژنوم انار جداسازی شده بودند (Pirseyedi *et al.*, 2010)، در ۱۰ نمونه تصادفی از ارقام انار ترش موجود در کلکسیون انار شهرستان یزد، مورد آزمایش قرار گرفتند. آزمایش‌های اولیه بر روی ژل آکریل امید معمولی انجام شد. تعداد هفت آغازگر انتخاب و جهت نشاندارشدن با IRD 700 به شرکت مربوطه سفارش داده شد.

### نتایج و بحث

نام و منشاء ژنوتیپ‌های انار ترش کلکسیون یزد در جدول ۱ و مشخصات آغازگرهای به کار برده شده در این بررسی در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

با انجام آزمایش‌های اولیه و از مجموعه آغازگرهای مورد استفاده، هفت آغازگر چند شکلی مناسب نشان داده و مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۳). در مجموع، ۳۰ آلل چند

شامل ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران از کلکسیون انار یزد بود. در این تحقیق، بعد از جمع‌آوری برگ‌ها در اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۶ استخراج DNA از برگ‌های جوان به روش‌های مختلف از قبیل CTAB (Murray and Thampson, 1980) و دلاپورتا و همکاران (Dellaporta *et al.*, 1983) انجام شد و روش استخراج به کمک کیت بایونیر (Bioneer) به عنوان مناسب‌ترین روش، جهت استخراج DNA با کیفیت انتخاب شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biorad در حجم ۱۰ میکرولیتر و در پلیت ۳۸۴ تایی انجام شد، که هر واکنش حاوی ۳ میکرولیتر DNA ژنومی (۲۰-۳۰ نانوگرم DNA)، ۱ میکرولیتر بافر پی‌سی آر (PCR) 10X، ۰/۵ میکرولیتر DNA پی‌سی آر (dNTPs) 1mM، ۰/۰۵ از آغازگر نشاندار، ۰/۱۵ از آغازگر غیر نشاندار، ۱/۵ واحد آنزیم تگ DNA پلیمراز (Taq DNA Polymerase)، ۰/۹ میکرولیتر کلرید منیزیم ۱۵ میلی‌مولار و ۴/۲۸ میکرولیتر آب دوبر تقطیر بود که حجم محیط واکنش به ۱۰ میکرولیتر رسانده شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه و مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی شامل ۱۰ چرخه حرارتی تاچ داون و متعاقباً ۲۵ چرخه با دمای اتصال مشخص برای هر آغازگر انجام شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره پلیمراز در الکتروفورز عمودی ژل پلی آکریل

## جدول ۱- اسامی و منشاء ژنوتیپ‌های انار ترش کلکسیون انار یزد

Table 1. Name and origin of Iranian sour pomegranate genotypes of Yazd pomegranate collection

منشاء	نام ژنوتیپ	ردیف	منشاء	نام ژنوتیپ	ردیف
Origin	Name of genotype	No.	Origin	Name of genotype	No.
Fars	ترش سبز هسته ریز سیدون	24	Fars	زرد انار پوست کلفت ترش	1
Fars	Torsh Sabz Hasteh Rize Sidon		Fars	Zard Anar Post Koloft Torsh	
Fars	پوست سفید ایچ استهبان ترش	25	Fars	وحشی نرک مرودشت ترش	2
Fars	Post Sefid Eij Estahban Torsh		Fars	Vahshi Narak Marvdasht Torsh	
Fars	مصری ترش کازرون	26	Fars	پنجه عروس کفر ترش	3
Fars	Mesri Torsh Kazeroon		Fars	Panjeh Arose Khafare Torsh	
Fars	ترش سبز کازرون	27	Fars	کدرو قصرالدشت ترش	4
Fars	Torsh Sabze Kazeroon		Fars	Kadro GHAsr Dasht Torsh	
Yazd	بذری مروست مهریز ترش	28	Fars	ترک قصر الشث ترش	5
Yazd	Bazri Marvast Mahrize Torsh		Fars	Tork Ghasr Dasht Torsh	
Yazd	دانه قرمز هراتی مهریز ترش	29	Fars	رمی ایچ استهبان ترش	6
Yazd	Daneh Ghermeze Harati Mahrize Torsh		Fars	Rami Eich Estahban Torsh	
Yazd	ترش پوست سفید ابراندآباد	30	Fars	کدرو شسری قصر الشث ترش	7
Yazd	Torsh Post Sefid Abarand Abad		Fars	Kadro SHhasri Ghasr Dasht Torsh	
Yazd	گل معمولی تفت ترش	31	Fars	شبستان پوست کلفت ترش	8
Yazd	Gole Mamoli Taft Torsh		Fars	SHabestan Post Koloft Torsh	
Yazd	گل گبری تفت ترش	32	Fars	فاروق ایچ استهبان ترش	9
Yazd	Gole Gabari Taft Torsh		Fars	Farogh Eij Estahban Torsh	
Yazd	پوست سیاه اردستان ترش	33	Fars	ترش سبز سروستان	10
Yazd	Poost seah Ardakan Torsh		Fars	Torsh Abze Sarvestan	
Yazd	گل دبه ای تفت ترش	34	Fars	کچی قصر الشث ترش	11
Yazd	Gole Dabehei Taft Torsh		Fars	Khajeei GHAsr Dasht Torsh	
Yazd	گل پیوندی تفت ترش	35	Fars	کدور پوست پیازی ترش	12
Yazd	Gole Pivandi Taft Torsh		Fars	Kadvar Post Piazi Torsh	
Yazd	ترش پوست قرمز هرابرجان	36	Fars	شور پر بار سیدون مرودشت ترش	13
Yazd	Torsh Poost Ghermeze Haraberjan		Fars	Shor Por Bar Saidon Marvdasht Torsh	
Yazd	گلو باریک هرات مهریز ترش	37	Fars	ترش سبز قصر الدشت	14
Yazd	Gelo Barik Harat Mahrize Torsh		Fars	Torsh Sabze Ghasr Dasht	
Yazd	نیمولی ریز هرابرجان ترش	38	Fars	خانی کم پی سیدون ترش	15
Yazd	Nimoli Rize Heraberjan Torsh		Fars	Khani Kam Piyeh Sidon Torsh	
Yazd	خانی دانه سفید ترش هرابرجان	39	Fars	کلوخه سروستان ترش	16
Yazd	KHani Daneh Sefid Torsh Heraberjani		Fars	Klokhea Sarvestan Torsh	
Yazd	گل گزی ترش هرابرجان	40	Fars	فلاتون ایچ استهبان ترش	17
Yazd	Gol Gazey Torsh Haraberjan		Fars	Ghalaton Eij Estahban Torsh	
Yazd	کوتجی پوست نازک بافق ترش	41	Fars	ترش سبز سروستان	18
Yazd	Kotji Poost NaZok Bafgh Torsh		Fars	Torsh Sabze Sarvestan	
Yazd	ترش پوست سفید ابرکوه	42	Fars	وحشی نرک سروستان ترش	19
Yazd	Torsh Poost Sefid Abarkoh		Fars	Vahshi Narak Sarvestan Torsh	
Yazd	گل مگزی تفت ترش	43	Fars	رباب سروستان ترش	20
Yazd	Gol Magasi Taft Torsh		Fars	Robab Sarvestan Torsh	
Yazd	کرمانی ترش بافق	44	Fars	پوست سفید سیدون ترش	21
Yazd	Kermani Torsh Bafgh		Fars	Post Sefid Sidon Torsh	
Yazd	ترش پوست نازک ابرکوه	45	Fars	اتابکی پوست قرمز سروستان ترش	22
Yazd	Torsh Poost Nazok Abarkoh		Fars	Atabaki Post Ghermez Sarvestan Torsh	
Yazd	رادکی دانه قرمز بافق ترش	46	Fars	وحشی نرک ایچ استهبان ترش	23
Yazd	Radki Daneh Ghermeze Bafgh Torsh		Fars	Vahshi Narak Eij Estahban Torsh	

Table 1. Continued

ادامه جدول ۱

ردیف	نام ژنوتیپ	منشاء	ردیف	نام ژنوتیپ	منشاء
No.	Name of genotype	Origin	No.	Name of genotype	Origin
47	شاهی دانه قرمز بافق ترش	یزد	71	کوهی سیری طیس ترش	خراسان
48	گل ترش معمولی تفت	یزد	72	قرمز کوهی طیس ترش	خراسان
49	نرک ترش بافق	یزد	73	ترش پوست نازک بیرجند	خراسان
50	رادکی دانه سفید بافق ترش	یزد	74	لم سری انار جنگلی ترش	مازندران
51	تخم موشی تفت ترش	یزد	75	ترش نار ریز زیر آب	مازندران
52	پوست قرمز چک چک اردکان ترش	یزد	76	وحشی جنگلی بابلسر ترش	مازندران
53	ترش پوست کلفت ساغند	یزد	77	سیاه نار بهشهر ترش	مازندران
54	ترش پوست کلفت ساغند	یزد	78	ترشی گلی نار بهشهر	مازندران
55	ترش تفتی مروست مهریز	یزد	79	پوست قرمز گرگان ترش	مازندران
56	بافتی پوست کلفت ساغند ترش	یزد	80	ترش زیر آب سواد کوه	مازندران
57	ترش پوست کلفت ساغند	یزد	81	ترش جنگلی زیر آب	مازندران
58	شی انبری تفت ترش	یزد	82	دم بلند گرگان ترش	مازندران
59	میر شرفی طیس ملس	خراسان	83	ترش نار بهشهر	مازندران
60	دم انبروتی ترش تربت حیدریه	خراسان	85	ترش نار درشت زیر آب	مازندران
61	ترش شهوار کاشمر	خراسان	86	ترش جنگلی گرگان	مازندران
62	نرک سنگ سفید ترش	خراسان	87	گلی زیر آب سواد کوه ترش	مازندران
63	کوهی نقاب کاشمر ترش	خراسان	88	ساوه نار بهشهر ترش	مازندران
64	سنگ نار پوست قرمز ترش	خراسان	89	ترش اشرف زیر آب	مازندران
65	سرخ درشت کاشمر ترش	خراسان	90	بینام دستجرد ترش	اصفهان
66	شلقمی پوست سفید ترش	خراسان	91	پوست قرمز دستجرد ترش	اصفهان
67	قرمز گلوبند ترش	خراسان	92	ساوه ای ترش دستجرد	اصفهان
68	ترش شهوار بجهستون	خراسان	93	ترش شماره یک کاشان	اصفهان
69	سگی ترش خوسف بیرجند	خراسان	94	اردستانی پوست قرمز ترش	اصفهان
70	ترش پوست کلفت بیرجند	خراسان	95	سوقرهما آباد ترش	اصفهان

Table 1. Continued

ادامه جدول ۱

منشاء Origin	نام ژنوتیپ Name of genotype	ردیف No.	منشاء Origin	نام ژنوتیپ Name of genotype	ردیف No.
Sistan	خراسانی پوست سفید ترش Khorasani Post Sefid Torsh	119	اصفهان	ترش شهوار دستجرد Torsh Shahvar Dastjerd	96
Sistan	پوست سفید بزمانی ترش Post Sefid Bazmani Torsh	120	اصفهان	گلی دانه سفید ناین ترش Goli Daneh Sefid Naein Torsh	97
Sistan	نرک وحشی ترش Narak Vahshi Torsh	121	اصفهان	گلی دانه قرمز ناین ترش Gol Daneh Ghermez Naein Torsh	98
Sistan	ترش نکجوب بمپور Torsh Nakjob Bampor	122	اصفهان	شهوار پوست قرمز ترش Shahvar Post Ghermez Torsh	99
Sistan	ترش معمولی زابل Torsh Mamoli Zabol	123	اصفهان	بذری ترش شهرضا Bazre Torsh Sahreza	100
Sistan	سیب هوشک ترش Sib Hoshak Torsh	124	اصفهان	ترش سرخ پوست شهرضا Torsh Sorkh Poost Shahreza	101
Sistan	پوست قرمز بزمانی ترش Post Ghermez Bazmani Torsh	125	اصفهان	سفید پوست ترش شهرضا Sefid Poost Shahreza Torsh	102
Sistan	بزمانی پوست کلفت ترش Bazmani Post Koloft Torsh	126	اصفهان	انباری ترش کاشان Anbari Torsh Kashan	103
Sistan	وشیک ترش Vashik Torsh	127	اصفهان	ترش پوست قرمز اردستان Torsh Poost Ghermeze Ardestan	104
Sistan	وحشی تمینی ترش Vahshi Tamini Torsh	128	اصفهان	اردستانی دانه قرمز ترش Ardestani Daneh Sorkh Torsh	105
Hormozgan	خورس حاجی آباد ترش Khors Haji Abad Torsh	129	اصفهان	شهوار ترش پوست سفید زواره Shahvar Torsh Poost Sefid Zavareh	106
Hormozgan	ترش پوست سفید حاجی آباد Torsh Post Sefid Haji Abad	130	اصفهان	سبز دانه قرمز ترش Sabzeh Daneh Ghermes Torsh	107
Hormozgan	وحشی ارتفاعات گنو ترش Vahshi Ertefaat Geno Torsh	131	اصفهان	ترش کم بار کوهپایه Torsh Kam Bar Kohpayeh	108
Hormozgan	نی تلخی حاجی آباد ترش Nei Talkhei Haje Abad Torsh	132	اصفهان	ترش ملس زواره اردستان Torsh Malas Zavareh Ardestan	109
Hormozgan	ترش میناب Torsh Minab	133	اصفهان	ترش زاغی کوهپایه Torsh Zaghi Kohpayeh	110
Hormozgan	میر عبداحسینی ترش Mir Abdolhosaeini Torsh	134	اصفهان	ترش خاتونی نظنز Torsh Khatoni Natanze	111
Tehran	نرک کن ترش Narak Kan Torsh	135	اصفهان	سراهی پوست سرخ ترش Serahi Poost Sorkh Torsh	112
Tehran	پوست سبز ورامین ترش Poost Sabze Varamin Torsh	136	اصفهان	ترش دماغ بسته کوهپایه Torsh Damagh Basteh Kohpayeh	113
Tehran	وحشی کوهستان البرز ترش Vahshi Koohestan Alborze Torsh	137	اصفهان	ترش دانه قرمز نجف آباد Torsh Daneh Ghermeze Najaf Abad	114
Khuzestan	سفید پوست دزفول ترش Sefid Poost Dezful Torsh	138	اصفهان	ترش ملس زواره اردستان Torsh Malas Zavareh Ardestan	115
Khuzestan	زجی ترش رامهرمز Zaje Torsh Ramhormoze	139	سیستان	گست سراوان ترش Gast Saravan Torsh	116
Khuzestan	پوست سرخ دانه سفید ترش Poost Sorkh Daneh Sefid Torsh	140	سیستان	کوهیک ترش Kohik Torsh	117
Khuzestan	ترش سبز باغ ملک ایذه Torsh Sabze Bagh Malek Eizeh	141	سیستان	ترش سرجو Torsh Sarjo	118

Table 1. Continued

ادامه جدول ۱

رديف	نام ژنوتیپ	منشاء	رديف	نام ژنوتیپ	منشاء
No.	Name of genotype	Origin	No.	Name of genotype	Origin
142	مشموری ترش رامهرمز	خوزستان	161	رش پوست کلفت ترش	کهگیلویه
143	بذری ترش دزفول	خوزستان	162	پوست قرمز ترش	کهگیلویه
144	دیوه ترش دزفول	خوزستان	163	ترش سبز پوست نازک	کهگیلویه
145	نرک لاسجرد ترش	سمنان	164	دریله مرادی مروست ترش	کردستان
146	شهواری ترش لاسجرد	سمنان	165	بد تخم پوست سفید پاوه ترش	کردستان
147	ترش پر بار درجزین	سمنان	166	بد تخم دانه قرمز پاوه ترش	کردستان
148	سک نار لاسجرد ترش	سمنان	167	بد تخم پوست قرمز پاوه ترش	کردستان
149	ترش پوست قرمز درجزین	سمنان	168	ترش صوری پاوه	کردستان
150	اردستانی دانه قرمز ترش	سمنان	169	دریله پر آب مروست ترش	کردستان
151	سفید ربی ترش	چهار محال	170	دریله دانه قرمز مروست ترش	کردستان
152	برگ موردی ترش	چهار محال	171	پوست سفید پاوه ترش	کردستان
153	جنگلی خودرو ترش	چهار محال	172	ترش پوست سفید ساوه	مرکزی
154	نادرانی پوست سفید ترش	چهار محال	173	وحشی ترش گل‌منخانه	آذربایجان غربی
155	شهری پوست سرخ ترش	چهار محال	174	ترش نار تسوج شبستر	آذربایجان غربی
156	ترش پوست نازک	چهار محال	175	کوهی گل‌منخانه ترش	آذربایجان غربی
157	پوست کلفت ترش	چهار محال	176	ترش گل‌منخانه ارومیه	آذربایجان غربی
158	وحشی ترش	کهگیلویه	177	ترش گل‌منخانه ارومیه	آذربایجان غربی
159	ترش پوست کلفت	کهگیلویه	178	کوهستانی تسوج ترش	آذربایجان شرقی
160	ترش صورتی	کهگیلویه	179	ترش دانه ریز دره هوراند	آذربایجان شرقی



Table 1. Continued

ادامه جدول ۱

منشاء	نام ژنوتیپ	ردیف	منشاء	نام ژنوتیپ	ردیف
Origin	Name of genotype	No.	Origin	Name of genotype	No.
Kerman	سبز پوست داوران رفسنجان ترش Sabze Poost Davaran Rafsanjan Torsh	200	آذربایجان شرقی	ترش دانه درشت دره هوراند Torsh Daneh Dorosht Dareh Horand	180
Kerman	پوست قرمز راور ترش Poost Ghermez Ravar Torsh	201	آذربایجان شرقی	کوهستانی ترش Kohestani Torsh	181
Kerman	ترش دانه قرمز راور Torsh Daneh Ghermez Ravar	202	کرمانشاه	سور کلاه ترش ریجاب Soor Kolah Torsh Rijab	182
Kerman	ترش پوست قرمز رفسنجان Torsh Poost Ghermez Rafsanjan	203	کرمانشاه	ترش پوست نازک ریجاب Torsh Poost Nazok Rijab	183
Kerman	ترش پوست پیازی راور Torsh Poost Piazye Ravar	204	کرمانشاه	سبز قمی ترش Sabze Ghomi Torsh	184
Kerman	نرک داوران رفسنجان ترش Narak Davaran Rafsanjan Torsh	205	کرمانشاه	قمی دانه درشت ترش GHomi Daneh Dorosht Torsh	185
Kerman	ترش دراج دوران Torsh Dorag Davaran	206	کرمانشاه	شهربانی ترش ریجاب Shahrbani Torsh Rijab	186
Kerman	کیوانی راور ترش Kivani Ravar Torsh	207	ایلام	ترش پوست سفید مهران Torsh Poost Sefid Mehran	187
Kerman	سفید پوست راور ترش Sefid Poost Ravar Torsh	208	ایلام	ترش سبز چرمک کلم Torsh Sabze Charmak Kalam	188
Kerman	ترش درجه دو راور Torsh Darajeh Do Ravar	209	کرمان	سک پوست سفید شهر بابک ترش Sak Post Sefid Shahr Babak Torsh	189
Kerman	میرزایی ترش راور Mirzaei Torsh Ravar	210	کرمان	دبه ای سر جنگل ترش Dabehei Sar Jangal Torsh	190
Kerman	روده ای داوران ترش Roodehei Davaran Torsh	211	کرمان	سک پوست قرمز شهر بابک ترش Sak Post Ghermez Shahr Babak Torsh	191
Kerman	ترش درجه یک راور Torsh Darajeh Ek Ravar	212	کرمان	قاسم مندلی رفسنجان ترش Ghasem Mandali Rafsanjan Torsh	192
Kerman	کیوانی چترود ترش Kivani CHatrod Torsh	213	کرمان	وحشی بهرننگ جیرفت ترش Vahshi Behrang Jiroft Torsh	193
Kerman	ترش ماهانی چترود Torsh Mahani Chatrod	214	کرمان	تایی پوست سفید چترود ترش Taei Poost Sefid Chatrod Torsh	194
Kerman	کدویی ترش خیر بافت Kadoei Torsh Khabar Baft	215	کرمان	سرخ پوست وحشی ترش Sorkh Poost Vahshi Torsh	195
Kerman	خودرو وحشی خیر بافت ترش Khordo Vahshi Khabar Baft Torsh	216	کرمان	بافتنی پوست قرمز راور ترش Baftani Poost Ghermez Ravare Torsh	196
Kerman	ترش کم بار خیر بافت Torsh Kam Bar Khabar Baft	217	کرمان	ترش پوست سفید شهداد Torsh Poost Sefid SHahdad	197
Kerman	ترش سبز پوست سفید ملس Torsh Sabze Poost Sefid Malas	218	کرمان	تایی پوست قرمز ترش Taei Poost Ghermez Torsh	198
Lorestan	قمی پوست کلفت ترش Ghomi Poost Koloft Torsh	219	کرمان	سبز پوست وحشی جیرفت ترش Sabz Poost Vahshi Jiroft Torsh	199

Table 1. Continued

ادامه جدول ۱

منشاء Origin	نام ژنوتیپ Name of genotype	ردیف No.	منشاء Origin	نام ژنوتیپ Name of genotype	ردیف No.
لرستان Lorestan	قمی پوست نازک خرم آباد ترش Ghomi Poost Nazok Khoram Abad Torsh	230	لرستان Lorestan	بواسی پوست سفید ترش Bavasi Poost Sefid Torsh	220
لرستان Lorestan	لری دانه قرمز ترش Lori Daneh Ghermeze Torsh	231	لرستان Lorestan	خانلری خرم آباد ترش Khanlari Khoram Abad Torsh	221
زنجان Zanjan	شهواری ترش طارم Shahvar Torsh Tarom	232	لرستان Lorestan	مرادی دانه قرمز ترش Moradi Daneh Ghermeze Torsh	222
زنجان Zanjan	ترش پوست سفید طارم Torsh Poost Sefid Tarom	233	لرستان Lorestan	قرمز پوست کلفت ترش Ghermeze Poost Kolofit Torsh	223
زنجان Zanjan	ترش پوست قرمز طارم Torsh Poost Ghermeze Tarom	234	لرستان Lorestan	بواسی پوست قرمز ترش Bavasi Poost GHermeze Torsh	224
گیلان Guilan	وحشی جنگلی رودسر ترش Vahshi Jangali Roodsar Torsh	235	لرستان Lorestan	سوز پوست کلفت شی نشائی ترش Sooze Poost Koloef Shi Nesha Torsh	225
گیلان Guilan	وحشی ترش لوشان Vahshi Torsh Loshan	236	لرستان Lorestan	ترش پوست سفید خرم آباد Torsh Poost Sefid Khoram Abad	226
گیلان Guilan	جنگلی پوست قرمز رودبار ترش Jangali Post Ghermez Rodbar Torsh	237	لرستان Lorestan	قمی پوست نازک ترش Ghomi Poost Nazok Torsh	227
گیلان Guilan	کوهی دانه قرمز رودبار ترش Kohi Daneh Ghermeze Rodbare Torsh	238	لرستان Lorestan	سوز لری شی نشائی ترش Sooze Lori Shi Nesha Torsh	228
			لرستان Lorestan	خودرو وحشی خرم آباد ترش KHordo Vahshi Khoram Abad Torsh	229

به جایگاه MP51 با طول آلل ۳۳۰-۳۰۰ جفت باز بود. سایر آغازگرها، قطعاتی را تکثیر کردند که اندازه آن‌ها در دامنه‌ای بین آغازگرهای MP26 و MP51 قرار داشت. نشانگرهای MP51 و MP26 به ترتیب با ۵ و ۸ آلل بیشترین مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) معادل ۰/۹۰۷ و ۰/۸۹۰ و نشانگر MP39 با ۲ آلل چند شکل کمترین محتوای اطلاعات چندشکلی معادل ۰/۵۴۴ را دارا هستند. با توجه به نتایج به دست آمده، می‌توان گفت که، نشانگرهای MP51 و MP26 با بیشترین محتوای

شکل مشاهده شد. تعداد ۲ تا ۸ آلل با میانگین ۳/۷ آلل برای هر آغازگر، در آغازگرهای مورد استفاده مشاهده شد. بیشترین تعداد آلل به آغازگر MP26 با ۸ آلل چندشکل و کمترین تعداد آلل‌ها به آغازگر MP39 با ۲ آلل چندشکل تعلق داشت. دامنه اندازه قطعات تکثیر شده PCR با استفاده از ۷ نشانگر متفاوت بود. طول قطعات تکثیر شده در دامنه بسیار نزدیکی از هم قرار داشتند. اندازه کوچک‌ترین قطعات مربوط به آغازگر MP26 با طول آلل ۱۶۰-۱۴۵ جفت باز و بزرگ‌ترین قطعه مربوط

جدول ۲- مشخصات نشانگر های ریزماهواره مورد استفاده

Table 2. Characteristics of used microsatellite markers

نام آغازگر	جایگاه تکرار	دمای اتصال
Name of primer	Repeat motif	Ta(°C)
ABRII-MP07	(AT) <sub>9</sub> (GT) <sub>8</sub>	55
ABRII-MP12	(CA) <sub>11</sub>	55
ABRII-MP26	(AG) <sub>26</sub>	50
ABRII-MP28	(GAGG) <sub>3</sub> (GA) <sub>19</sub>	55
ABRII-MP30	(CT) <sub>15</sub>	55
ABRII-MP39	(GA) <sub>8</sub>	55
ABRII-MP42	(GA) <sub>9</sub>	55
ABRII-MP51	(GA) <sub>19</sub>	55

جدول ۳- اطلاعات به دست آمده از آغاز گر ها

Table 3. Produced information by primers

نام آغازگر	توالی آغازگر	تعداد آلل	اندازه آلل	PIC	H
Name of primer	Primer sequences	Number of allele	Size of allele		
MP07	F:5-GATTAACAGCAAAGCCTAGAGG-3 R:5-AGTAGCTGCAACAAGATAAGG-3	4	190-180	0.807	0.828
MP12	F:5-TTGAGTCCCGATCATATCTC-3 R:5-TCAATCTGTCAGGAACAACA-3	4	240-270	0.840	0.856
MP26	F:5-TTTCTCGAAGAATTGGGTAA-3 R:5-CTGAGTAAGCTGAGGCTGAT-3	8	160-145	0.890	0.895
MP30	F:5-CCCAGTTTGTAGCAAGGTA-3 R:5-AAGCTGACATTCTTTGAAGC-3	3	190-160	0.699	0.739
MP39	F:5-AGTCTCTGAAGTTTGTGCGGA-3 R:5-CCTGAGTAAAGCATCTCACTG-3	2	305-250	0.544	0.612
MP42	F:5-GAGCAGAGCAATTCAATCTC-3 R:5-AACAATTTCCCATGTTTGAC-3	3	220-200	0.746	0.780
MP51	F:5-TCTGTCTTTGTGTTCTGAG-3 R:5-CCCTGTTCTTCTTCTCCTT-3	5	330-300	0.907	0.913

PIC: Polymorphic Information Content

H: Hetrozygosity

در آغازگر های MP51 و MP26 به ترتیب ۰/۸۹۵ و ۰/۹۱۳ و کمترین مقدار آن برای آغازگر MP39، ۰/۶۱۲، بود. به نظر می رسد که بین تعداد آلل، محتوای اطلاعات چندشکلی و میزان ناخالصی رابطه مستقیمی وجود دارد و

اطلاعات چندشکلی، بیشترین شاخص چندشکلی را نشان دادند، در نتیجه این دو نشانگر بهتر از سایر نشانگر های استفاده شده، می توانند فاصله ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ های انار را مشخص کنند. بالاترین میزان ناخالصی (H)

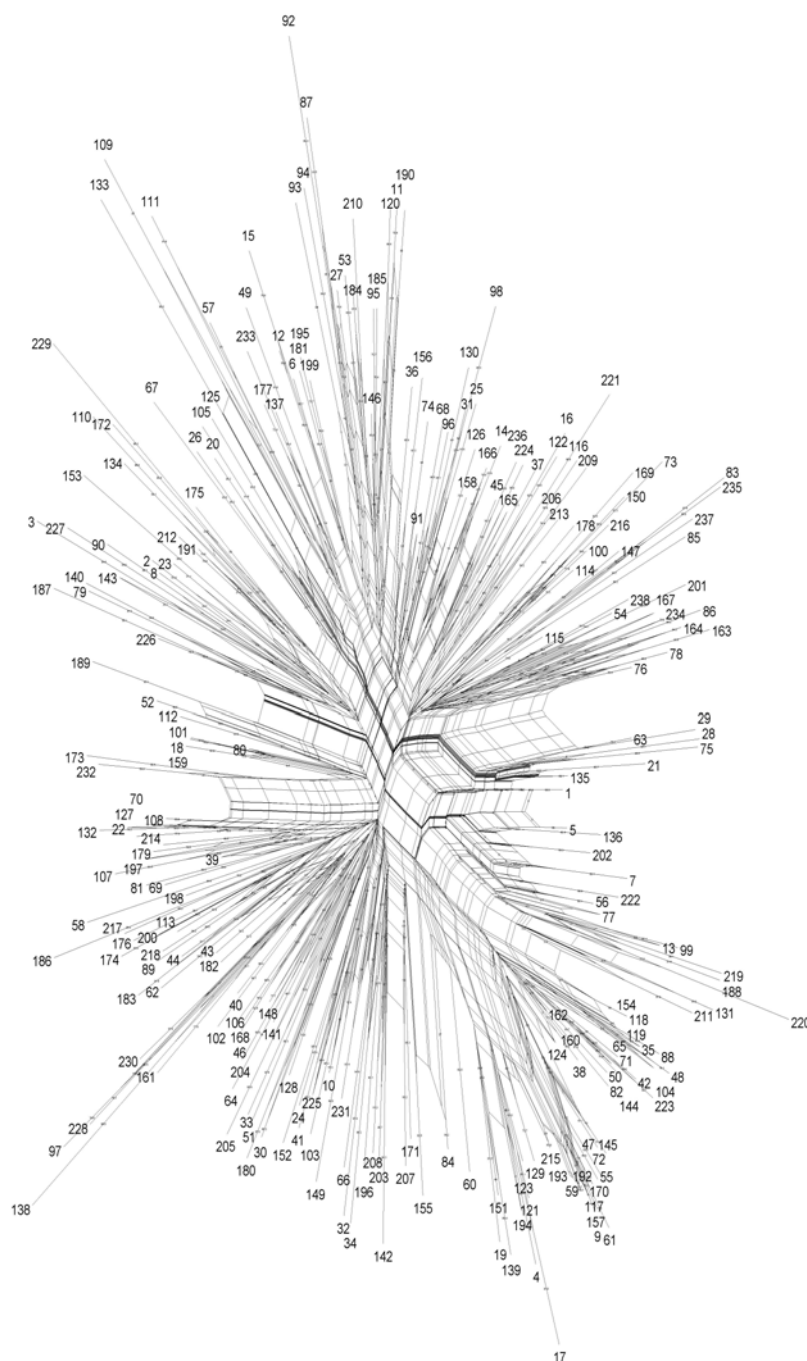
با افزایش تعداد آلل، میزان محتوای اطلاعات چندشکلی و ناخالصی نیز بزرگ‌تر می‌شود.

به منظور تعیین اعتبار دندروگرام‌های رسم شده از روش Bootstrap با ۱۰۰۰ تکرار استفاده شد. از ماتریس عدم تشابه ژنتیکی بر اساس ضریب آلل‌های مشترک و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic) استفاده شد. ضریب همبستگی کوفنتیک مربوط به دندروگرام به دست آمده با این روش، ۰/۵۵۹ بود. با وجودی که همبستگی کوفنتیک این دندروگرام حدود ۰/۵۵ بود، که مقدار بالایی نیست ولی با توجه به معنی‌دار بودن در سطح ۱٪ و جداسازی قابل توجیه ژنوتیپ‌ها، این دندروگرام انتخاب شد. رینکون و همکاران (Rincon, 1996) در تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های مولکولی نشان دادند که به طور کلی ضریب کوفنتیک پایین، دلیل بر عدم کارآیی نمودار حاصل نمی‌تواند باشد، بلکه ضریب همبستگی کوفنتیک پایین ممکن است به دلیل شرایط غیر عادی در داده‌ها به خصوص داده‌های مولکولی باشد.

بر اساس تجزیه خوشه‌ای به روش Bootstrap، تمامی نمونه‌ها در شش گروه اصلی قرار گرفتند (شکل ۱). گروه اول شامل نه ژنوتیپ بود که مربوط به استان‌های مختلف هستند. گروه دوم شامل نوزده ژنوتیپ مربوط به استان‌های لرستان، کردستان، یزد، فارس، مازندران و کرمان بود با بررسی دندروگرام، مشاهده می‌شود که در این

گروه دو ژنوتیپ ترش پوست سفید ایلام و ترش پوست سفید لرستان وجود داشت. تشابه اسمی این نمونه‌ها و همچنین همجواری این دو استان، نشان‌دهنده این است که احتمالاً منشاء این دو ژنوتیپ مشابه بوده و با انتقال از یک منطقه به منطقه دیگر در فهرست ژنوتیپ‌های آن استان نیز قرار گرفته است. گروه سوم بیشترین تعداد ژنوتیپ‌ها را شامل می‌شد که شامل کلیه مناطق جغرافیایی بود و ارتباط خاصی بین قرارگیری ژنوتیپ‌ها بر مبنای تقسیم‌بندی استانی و یا نمونه‌های با نام‌گذاری مشابه در کنار یک دیگر وجود نداشته و نمونه‌ها به طور مستقل از این عوامل طبقه‌بندی شده‌اند. گروه چهارم شامل بیست و یک ژنوتیپ است بیشتر آن‌ها مربوط به استان‌های مرکزی کشور بودند. گروه پنجم شامل چهل و دو ژنوتیپ است که اکثر ژنوتیپ‌های این گروه مربوط به استان‌های مرکزی و شرقی و جنوب شرقی ایران بودند و بیش از پنجاه درصد از ژنوتیپ‌های استان سیستان و بلوچستان در این گروه قرار گرفتند. گروه ششم بعد از گروه سوم شامل بیشترین ژنوتیپ‌ها بود که ارتباط خاصی بین ژنوتیپ‌های آن‌ها مشاهده نمی‌شد.

با بررسی دندروگرام رسم شده با روش UPGMA (شکل ۲) و نتایج حاصل از آن نیز، می‌توان دریافت که گروه‌بندی دقیقی از نظر تفاوت توزیع جغرافیایی نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود که این امر می‌تواند ناشی از عدم دقت در نحوه نمونه‌برداری و تشکیل کلکسیون اولیه

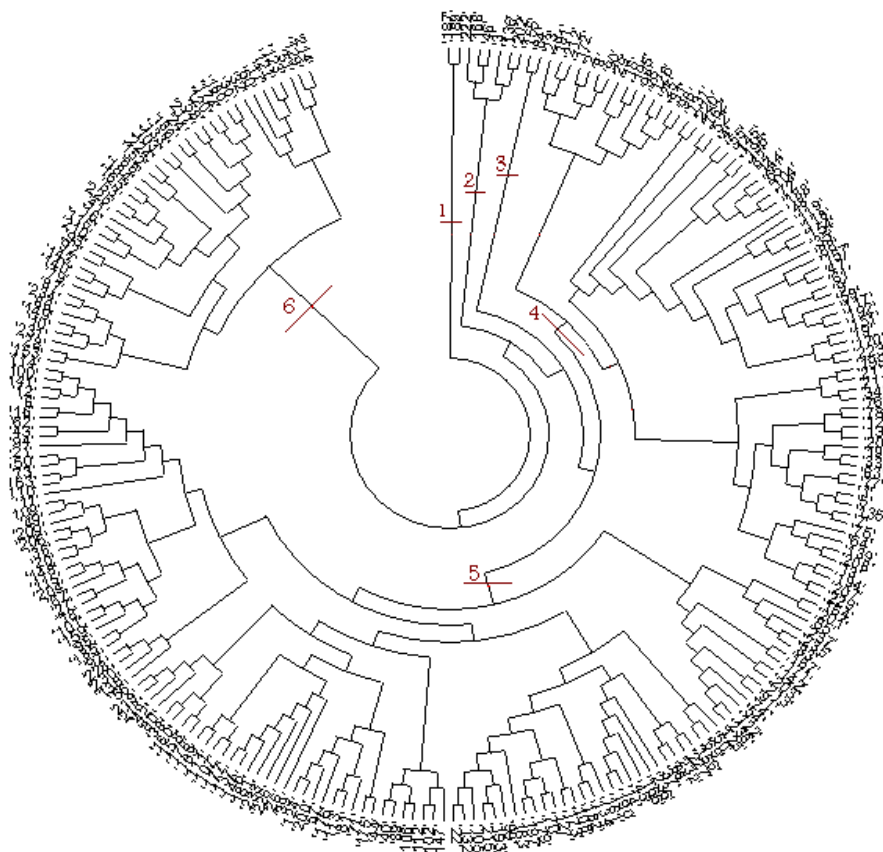


شکل ۱- گروه بندی ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران با استفاده از نشانگر ریزماهواره بر اساس الگوریتم Bootstrap

Fig. 1. Grouping of 238 Iranian sour pomegranate genotype using microsatellite markers according to Bootstrap algorithm

اعداد داخل شکل شماره ژنوتیپها هستند (به جدول ۱ مراجعه شود).

Numbers inside the figure are genotypes number (see Table 1).



شکل ۲- گروه‌بندی ۲۳۸ ژنوتیپ انار ترش ایران با استفاده از نشانگر ریزماهواره بر اساس الگوریتم UPGMA

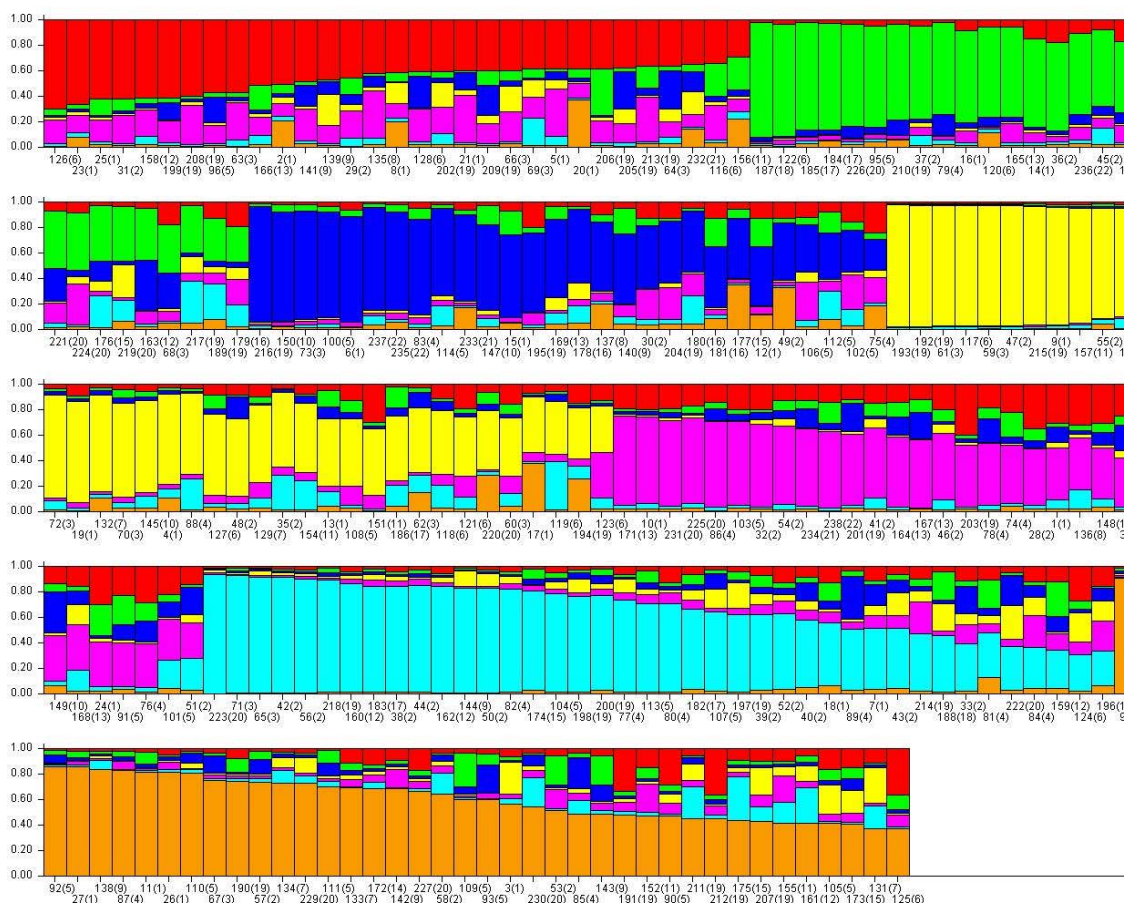
Fig. 2. Grouping of 238 Iranian sour pomegranate genotype using microsatellite markers according to UPGMA algorithm

خوشه‌بندی بر مبنای مدل، بر اساس شاخص آماری Bayesian، در تفسیر ساختار جمعیت پیشنهاد شد. بدین ترتیب، به کمک این روش، حتی با استفاده از تعداد اندکی نشانگرهای غیر پیوسته نیز، تجزیه موثر ساختار جمعیت و دسته‌بندی دقیق افراد به جمعیت‌های مناسب و تشخیص افراد مختلط امکان‌پذیر می‌شود. در این تحقیق، ارزیابی ساختار جمعیت‌ها به کمک نرم‌افزار Structure انجام شد و نمونه‌ها، به هفت

باشد. البته در مواردی نیز ارقام و ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از یک استان در یک گروه مشترک قرار گرفته‌اند و یا گاهی نمونه‌هایی با خصوصیات مشابه جمع‌آوری شده از استان‌ها یا شهرهای مختلف، در یک گروه واقع شده‌اند. در سال ۲۰۰۰ توسط پریچارد و همکاران (Pritchard *et al.*, 2000) بحث‌هایی در مورد برخی محدودیت‌های موجود در روش‌های خوشه‌بندی بر مبنای فاصله، مطرح و روش

تبار نمونه‌های مورد مطالعه صحنه می‌گذارد. یعنی هر فرد ممکن است بخش‌هایی از ژنوم خود را از تبار خود در جمعیت K، به ارث برده باشد. همچنین احتمالاً فراوانی آللی نیز در جمعیت‌های مختلف به علت مهاجرت و یا تبار مشترک، همبستگی دارد.

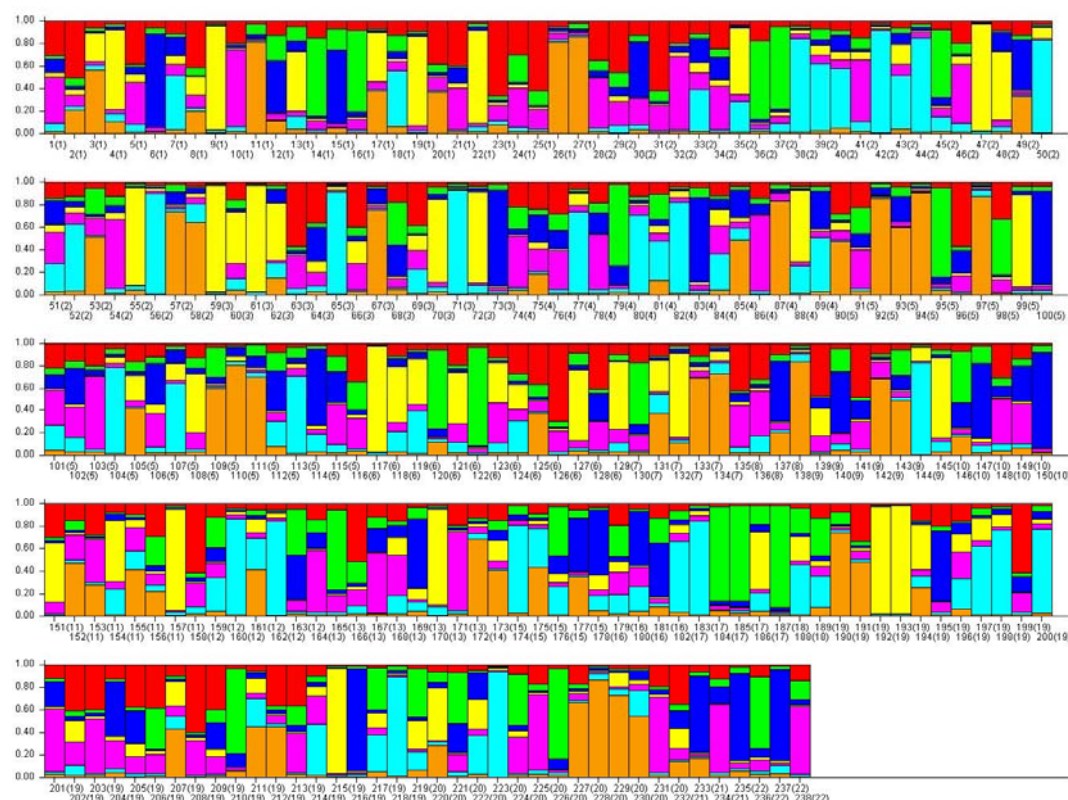
جمعیت اختصاص یافتند که هیچ یک از آن‌ها بر مبنای استان‌هایی که این نمونه‌ها از آن‌جا منشأ گرفته یا جمع‌آوری شده بودند، به طور کامل از هم تفکیک نشدند (شکل‌های ۳ و ۴). اختلاط شدید موجود در بین نمونه‌ها در شکل ۳ به خوبی نمایان است. اختلاط شدید مشاهده شده در این ژرم پلاسما، بر مخلوط بودن



شکل ۳- دسته‌بندی ژرم پلاسما انار بر اساس نرم‌افزار Structure  
 Fig. 3. Clustering of pomegranate germplasm using structure software

نواحی جغرافیایی نمونه‌ها، نام‌گذاری و خصوصیات ژنتیکی آن‌ها از خصوصیات ژرم پلاسماهای انار موجود باشد. تجزیه

به طور کلی نتایج به دست آمده از تجزیه‌های آماری به روش‌های مختلف نسبتاً مشابه بوده و به نظر می‌رسد عدم مطابقت بین



شکل ۴- نقشه Q برای ژنوتیپ های انار بر اساس نرم افزار Structure  
 Fig. 4. Map of Q for pomegranate genotype using structure software

نام گذاری های مشابه تفکیک نمی شوند، زیرا ممکن است بر اساس نسب به یک دیگر مرتبط نباشند. از آنجایی که منشاء دقیق این گیاهان شناخته شده نیست، این احتمال وجود دارد که انارهایی که در یک منطقه جغرافیایی وجود دارند، در اصل از مکان دیگری منشا گرفته و با نام جدیدی در مقصد کشت شده باشند. این نتایج ناشی از جابه جایی ژنوتیپ ها از منطقه اصلی به سایر بخش های کشور و عمدتاً بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و بوده که این امر لزوم دقت در زمان نام گذاری نمونه ها و همچنین لزوم استفاده همزمان از اطلاعات

و تحلیل ژرم پلاسما انار تونس که بر پایه خصوصیات میوه توسط مارس و مراکچی (Mars and Marrakchi, 1999) انجام شده بود، نشان داد که منشا جغرافیایی ارقام، معیاری جهت تعیین گروه بندی آنها به شمار نمی رود. همچنین، در مطالعه ای دیگر (Jbir et al., 2008) که با استفاده از نشانگرهای AFLP و بر روی ژنوتیپ های تونس انجام شد، گزارش شد که دسته بندی ژنوتیپ ها مستقل از منشا جغرافیایی شان بوده است. مطالعه حاضر نیز نشان داد که نمونه های انار ترش ژرم پلاسما موجود، بر اساس مکان ها و یا



فاحشی نشان داده و در نتیجه در یک ژرم پلاسم بزرگ قادر به دسته بندی دقیقی نیست. پیشنهاد می شود که برای تفکیک دقیق تر این ژرم پلاسم از نشانگرهایی با چندشکلی پائین تر استفاده شود. از طرفی ممکن است با افزایش تعداد نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده به تفکیک بهتری در ژرم پلاسم مورد مطالعه دست یافت که این امر مستلزم طراحی آغازگرهای ریزماهواره جدید است. علاوه بر این، از آنجایی که آغازگرهای ریزماهواره از نواحی غیر کد کننده نیز جداسازی شده اند، و خصوصیات مورفولوژیکی، حاصل توالی های بیان شونده و برهم کنش آنها است، در نتیجه قسمت هایی از ژنوم که به وسیله این آغازگرها تکثیر می شوند، احتمالاً در ژن های کد کننده خصوصیات مورفولوژیکی قرار نداشته و بنابراین استفاده از آغازگرهای EST که بر پایه نواحی کدشونده طراحی شده اند، پیشنهاد می شود.

مولکولی و مورفولوژیکی را در احداث کلکسیون آشکار می سازد زیرا برخی از جهش ها و تغییرات ژنتیکی در خصوصیات نظیر رنگ میوه، شکل، اندازه درخت رخ می دهند که از نظر فنوتیپی به راحتی قابل شناسایی هستند، اما با استفاده از برخی نشانگرهای مولکولی قابل تشخیص نیستند. همچنین باید توجه شود که تاثیر بعد از نسخه برداری و توارث غیرهسته ای نیز می تواند دلیل عدم تناسب نشانگرهای مولکولی و خصوصیات مورفولوژیکی باشد. بنابراین انجام مطالعات مورفولوژیکی دقیق و یا مطالعه صفات فنولوژیکی برگ، گل و میوه می تواند در حصول نتایج قابل اعتمادتر در ژنوتیپ های انار مثر ثمر باشد.

علت دیگر عدم تفکیک دقیق نمونه ها، ممکن است به ماهیت نشانگرهای مورد استفاده مربوط باشد، زیرا چندشکلی بالای حاصل از نشانگرهای ریزماهواره، تفاوت ها را به شکل

## References

- Akrami, M. R., Tabatabaei, S. Z. A., and Mireskandari, S. E. 2004. Investigation of the most important properties of pomegranate cultivars deposited in Saveh collection. Abstracts of the 2nd National Congress and Festival of Pomegranate, Neiriz, Fars, Iran (in Persian).
- Awamleh, H., Hassawi, D., Migdadi, H., and Brake, M. 2009. Molecular characterization of pomegranate landraces grown in Jordan using amplified fragment length polymorphism markers. *Biotechnology* 8(3):316-322.

- Behzadi Shahrabaki, H. 1998.** Genetic Diversity of Pomegranate Genotypes in Iran. Nashr Amoozesh Keshavarzi, Tehran, Iran. 256 pp. (in Persian).
- Butlin, R. K., and Tregenza, T. 1998.** Levels of genetic polymorphism: marker loci versus quantitative traits. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 355:187- 198.
- Dellaporta, S. L., Wood, J., and Hicks, J. B. 1983.** A plant mi preparation: version II. *Plant Plant Molecular Biology* 1: 19-21.
- Jbir, R., Hasnaoui, N., and Mars, M. 2008.** Characterization of Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars using amplified fragment length polymorphism analysis. *Scientia Horticulturae* 115: 231–237.
- Karp, A., Edwards, K. J., Bruford, M., Funk, S., Vosman, B., Morgante, M., Seberg, O., Kremer, A., Boursot, P., Arctander, P., Tautz, D., and Hewitt, G. M. 1997.** Molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. *Nature Biotechnology* 15: 625-628.
- Mars, M., and Marrakchi, M. 1999.** Diversity of pomegranate (*Punica granatum* L.) germplasm in Tunisia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46: 461-467.
- Murry, H. G., and Thompson, W. F. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acids Research* 8: 4321-4325.
- Pirseyedi, S. M., Valizadegan, S., Mardi, M., Ghaffari, M., Mahmoodi, P., Zeinalabedini, M., and Khayam, S. M. 2010.** Isolation and characterization of novel microsatellite. *International Journal of Molecular Science* 11: 2010-2016.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. 2000.** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959.
- Rahimi, T., Sayed Tabatabaei, B. E., Sharifnabi, B., and Ghobadi, C. 2006.** Genetic relationships between Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars, using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Marker. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 36: 373-379 (in Persian).
- Rechinger, K. H. 1966.** *Flora Iranica*, Vol. 22. Graz, Akademische Druck-vnd Verlagsanstalt, Austria.
- Rincon, F., Johnson, B., Crossa, J., and Taba, S. 1996.** Cluster analysis, an approach to sampling variability in maize accessions. *Maydica* 41: 307–316.

- Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., and Ebadi, A. 2006.** RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) lanraces. *Scientia Horticulturae* 111: 24-29.
- Stover, E. and Mercure, E. W. 2007.** The pomegranate a new look at the fruit of paradise. *HortScience* 42: 1088-1092.
- Vesvaei, A. 1988.** History of Botanical, Ecological and Geographical Spread of Pomegranate in Iran, Study of Pomegranate in Iran. University of Tehran Jihad-e-Daneshgahi Press. Tehran, Iran (in Persian).
- Zamani, Z., Sarkhosh, A., Fatahi, R., and Ebadi, A. 2007.** Genetic relationships among pomegranate genotypes studied by fruit characteristics and rapid markers. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82: 11-18.
- Zane, L., Bargelloni, L., and Patarnello, T. 2002.** Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11: 1-16.