مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۱، شماره ۱، سال ۱۳۹۴

تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ارقام بادام ایرانی و خارجی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره (SSR)

Genetic Diversity and Relationship of Iranian and Exotic Almond Cultivars Using Microsatellite (SSR) Markers

سیداصغر موسوی[۱]، محمدرضا فتاحی مقدم[۲]، ذبیح‌الله زمانی[۳]، مریم تاتاری[۴]، علی ایمانی[۵] و پدرو ماتینز-گومز[۶]

۱- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری، شهر کرد
۲ و ۳- به ترتیب دانشیار و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
۴ و ۵- به ترتیب کارشناس و استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
۶- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات CEBAS-SCIS، مورسیا، اسپانیا

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۳ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۱۰**

چکیده

موسوی، س. ا.، فتاحی مقدم، م. ر.، زمانی، ذ.، تاتاری، م.، ایمانی، ع. و ماتینز- گومز، پ. ۱۳۹۴. تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ارقام بادام ایرانی و خارجی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره (SSR). **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۱: ۵۳ - ۲۵.**

در این پژوهش تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ۵۳ رقم بادام ایرانی و خارجی با استفاده از پانزده مکان ریزماهواره مورد ارزیابی قرار گرفت. در مجموع ۱۳۱ آلل با دامنه اندازه باند بین ۷۵ تا ۲۰۵ جفت باز و تعداد ۴ تا ۱۳ آلل با میانگین آللی ۸/۷۳ و میانگین آلل های موثر ۵/۹۲ در هر مکان مشاهده شد. هتروزیگوسیتی مورد انتظار بین ۰/۶۳ تا ۰/۹۲ با میانگین ۰/۸۱ در هر مکان متغیر بود. میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی و قدرت تفکیک کنندگی به ترتیب ۰/۸۱ و ۰/۷۷ بود. هتروزیگوسیتی بالایی بین ارقام وجود داشت و دامنه تغییرات آن از کم (۰/۲) تا زیاد (۰/۷۳) متغیر بود. بین ارقام مورد مطالعه، تنوع بالا و میزان تشابه مختلفی از کم (۰/۰۳۹) تا خیلی زیاد (۰/۹۶) وجود داشت. نتایج تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه دایس به روش UPGMA ارقام بادام را به ۸ گروه اصلی تقسیم کرد که بیانگر تنوع بالایی را بین ارقام بادام بود، اما در برخی موارد تشابه ژنتیکی بالایی بین برخی ارقام ایرانی و خارجی دیده شد. تنوع بالای بین ارقام بادام ایرانی بیانگر منبع غنی ژرم‌پلاسم بادام ایران برای استفاده در برنامه‌های به نژادی بادام است.

واژه‌های کلیدی: بادام، رقم، نشانگر مولکولی، تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای.

نویسنده مسئول: asgharmousavi@yahoo.com تلفن: ۰۳۸۱۳۳۳۵۶۴۰

مقدمه

بررسی تنوع ژنتیکی، تعیین روابط خویشاوندی و شناسایی ارقام بادام، جهت کشت در باغ‌های تجارتی، مدیریت کلکسیون‌ها و انتخاب والدین مناسب برای تلاقی‌های کنترل شده در برنامه‌های به‌نژادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Martinez-Gomez *et al*., 2003a, b). روش‌های مولکولی متعددی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تشخیص ذخایر توارثی در گیاهان ابداع شده‌اند. در این میان نشانگرهای ریزماهواره (SSR) به علت دارا بودن مزایایی از قبیل چند شکلی بالا، توارث هم بارز، قابلیت تکرار آسان، فراوانی و توزیع وسیع و تصادفی در طول ژنوم کاربرد وسیعی برای مطالعات مولکولی و انگشت‌نگاری DNA داشته و به عنوان نشانگرهای انتخابی در بسیاری از برنامه‌های به‌نژادی گیاهی استفاده می‌شوند (Powell *et al*., 1996؛ Dirlewanger *et al*., 2002). از جمله کاربردهای ریزماهواره‌ها می‌توان به مواردی از قبیل بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط خویشاوندی، بررسی منشا جغرافیایی یا دودمان، آزمون‌های والدین و نتاج و تهیه نقشه‌های ژنومی در بادام اشاره کرد (Dangl *et al*., 2009؛ Fernandez i Marti *et al*., 2009؛ Martinez-Gomez *et al*., 2005؛ Zeinolabedini *et al*., 2010؛ Gouta *et al*., 2010؛ Elhamzaoui *et al*., 2013). نشانگرهای ریزماهواره زیادی در گونه‌های بادام (Xu *et al*., 2004؛ Mnejja *et al*., 2005؛ Testolin *et al*., 2004) و هلو (Sosinski *et al*., 2000؛ Testolin *et al*., 2000؛ Aranzana *et al*., 2002, 2003) جداسازی و معرفی شده‌اند. در بین این نشانگرهای معرفی شده، نشانگرهای ریزماهواره جداسازی شده از گونه هلو به طور موفقیت‌آمیزی برای مطالعات مولکولی و بررسی روابط فیلوژنتیکی در بین ارقام بادام (Fathi *et al*., 2008؛ Zeinolabedini *et al*., 2007, 2012؛ Shiran *et al*., 2007؛ Distefano *et al*., 2013؛ Elhamzaoui *et al*., 2012) و سایر گونه‌های جنس پرونوس (Wunsch *et al*., 2009؛ Bouhadida *et al*., 2009) به کار رفته است. مارتینز- گومز و همکاران (Martinez-Gomez *et al*., 2003a) تنوع و ارتباط ژنتیکی را در ۳۰ رقم بادام، ۲۰ رقم هلو با هسته آزاد، ۱۵ رقم هلو با هسته چسبیده و ۱۰ پایه با استفاده از ۱۸ نشانگر ریزماهواره بررسی کردند. تعداد آلل‌های آشکار شده از یک تا شش برای هلو و از سه تا نه برای بادام متغیر بود. ارقام بادام نیز در دو گروه جای گرفتند، به طوری که گروه اول ارقام بادام کالیفرنیا و گروه دوم ارقام اروپایی بادام به همراه رقم میشن از کالیفرنیا را شامل شد. ژو و همکاران (Xu *et al*., 2004) با استفاده از ۲۱ جفت آغازگر ریزماهواره ارتباطات ژنتیکی

۳۶ رقم بادام از نواحی چین و مدیترانه و هشت ژنوتیپ از گونه‌های وابسته دیگر جنس *Prunus* را بررسی کردند. تمام ارقام اهلی بادام در یک گروه جای گرفتند و گروه مذکور به دو زیر گروه که زیر گروه اول تمام ارقام چینی به همراه یک رقم با منشا ناشناخته و زیر گروه دوم تمام ارقام مدیترانه‌ای را شامل بودند تقسیم‌بندی شدند. ژی و همکاران (Xie *et al*., 2006) بررسی تنوع و ارتباط ژنتیکی ۲۳ رقم بادام از چین و ۱۵ رقم بادام از کشورهای آمریکا، فرانسه، ایتالیا و اسپانیا، دو دورگ هلو- بادام و سه رقم هلو را با ۱۶ نشانگر ریزماهواره هلو مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، ارقام بادام چینی در گروه مجزایی جای گرفتند و این بدان معنی است که ارقام بادام چینی تاریخچه تکاملی مستقل دارند. شیران و همکاران (Shiran *et al*., 2007) با استفاده از ۱۸ جفت آغازگر ریزماهواره هلو، تنوع ژنتیکی بین ۳۶ رقم بادام اهلی به همراه سه گونه وحشی آن را مورد مطالعه قرار دادند. میزان تشابه ژنتیکی بین ارقام و ژنوتیپ‌ها وگونه‌های بادام تحت مطالعه پایین وتنوع بین آن‌ها نسبتا زیاد بود. به طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌های تحت بررسی را بر اساس منشا جغرافیایی یا دودمان نشان داد.

فرناندز آی مارتی و همکاران (Fernandez i Marti *et al*., 2009) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ارقام بادام اسپانیایی را با ارقام خارجی بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره در گونه‌های جنس پرونوس برای شناسایی ارقام بادام بسیار کارآمد هستند و به خوبی تنوع و تفاوت بین ارقام را نشان می‌دهند. زین‌العابدینی و همکاران (Zeinalabedini *et al*., 2010) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره هسته‌ای و کلروپلاستی منشا و روابط ژنتیکی بین ارقام و گونه‌های بادام را بررسی و گزارش کردند که گونه *P. fenzliana* که در ایران وجود دارد، شاید یکی از اجداد بادام‌های اهلی باشد. تنوع ژنتیکی مفیدی در اثر تلاقی‌های بین گونه‌های ایجاد شده است که منبع ژنی خوبی برای به‌نژادی بادام‌های اهلی است. گوتا و همکاران (Gouta *et al*., 2010) تنوع ژنتیکی ۵۰ ژنوتیپ بادام بومی تونس و روابط خویشاوندی آن‌ها را با ارقام بادام اروپایی و آمریکایی با ۱۰ جفت نشانگر ریزماهواره بررسی کردند. نتایج حاصله این ارقام را از نظر جغرافیایی تفکیک کرد که بیانگر تنوع بالا در جمعیت بادام‌های بومی تونس و نیز پتانسیل ژنتیکی بالای این ژرم‌پلاسم برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی بادام بود.

الهمزویی و همکاران (Elhamzaoui *et al*., 2013) تنوع ژنتیکی در ۶۸ ژنوتیپ بادام مراکش و روابط خویشاوندی آن‌ها را با ۳۲ رقم خارجی توسط ۱۶ جفت نشانگر ریزماهواره بررسی و گزارش کردند که تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضریب تشابه دایس،

ارقام را بر اساس منشا جغرافیایی آن‌ها گروه‌بندی کرد و ژنوتیپ‌های بومی مراکش در یک گروه مجزا از ارقام خارجی قرار گرفتند. بر اساس نتایج آن‌ها تنوع ژنتیکی بالایی در بادام‌های بومی مراکش وجود داشت که این تنوع منبع مهمی برای به‌نژادی ارقام بادام فراهم می‌کند. دی استفانو و همکاران (Distefano *et al.*, 2013) تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ۱۱۳ رقم و ژنوتیپ بادام ایتالیایی و خارجی از کشورهای فرانسه، اسپانیا، تونس، آمریکا و استرالیا را با استفاده از نه نشانگر ریزماهواره مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند که تنوع زیادی بین بادام‌های ایتالیایی به خصوص در منطقه سیسیل وجود دارد. نتایج این ارزیابی‌ها نشان داد که روابط ژنتیکی بین بادام‌های ایتالیایی با بادام‌های موجود در سایر کشورهای مورد بررسی وجود دارد.

پاپ و همکاران (Pop *et al.*, 2013) پس از بررسی روابط ژنتیکی بین ارقام گردو با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی رپید و ریزماهواره گزارش کردند نشانگرهای ریزماهواره برای بررسی روابط ژنتیکی ارقام کارایی بیشتری دارند و بین نشانگرهای ریزماهواره و نشانگرهای مورفولوژیکی برای ارزیابی ارقام گردو مشابهت زیادی وجود دارد. تنوع و روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گردوی ایرانی توسط کریمی و همکاران (Karimi *et al.*, 2010) گزارش شده است. ونچ (Wunsch, 2009) گزارش کرد نشانگرهای ریزماهواره هلو قابلیت انتقال و چندشکلی در بین گونه‌های جنس پرونوس را دارند و برای بررسی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی در گونه‌های جنس پرونوس کارایی بالایی نشان دادند. در مجموع می‌توان گفت نشانگرهای ریزماهواره ژنومی استخراج شده از هلو قابلیت بالایی برای مطالعات تنوع ژنتیکی، انگشت نگاری DNA، مطالعات شجره‌ای و ارتباطات ژنتیکی در بادام و سایر گونه‌های آن را دارند. با توجه به اهمیت و کاربرد نشانگرهای ریزماهواره این پژوهش با هدف بررسی میزان تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی در ارقام داخلی و خارجی بادام با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

ارقام مورد بررسی در این پژوهش شامل ۵۳ رقم و ژنوتیپ بادام ایرانی و خارجی بودند. نمونه‌های برگ از سرشاخه‌های جوان ارقام از کلکسیون‌های مختلف بادام در کشور شامل ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال آباد کرج وابسته به موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، باغ امامیه در منطقه سامان وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد و ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی (تبریز) تهیه شد. نمونه‌های برگ

جمع‌آوری شده ارقام مختلف بادام به سرعت روی یخ به آزمایشگاه منتقل و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شدند. این نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی از ارقام مورد بررسی به روش موری و تامپسون (Murray and Thompson, 1980) با کمی تغییرات در بافر استخراج انجام شد. به این منظور از بافر استخراج شامل ۱۰۰ میلی‌مولار تریس pH = ۸، ۲۰ میلی‌مولار EDTA، ۱/۴ مولار کلرید سدیم، ۲ درصد هگزا دسیل تری متیل آمونیوم بروماید (CTAB)، دو درصد پلی وینیل پیرولیدون (PVP_{40}) و دو درصد ۲-بتامرکاپتواتانول استفاده شد. با اضافه کردن PVP_{40} به بافر استخراج متابولیت‌های ثانویه موجود در برگ‌های بادام حذف شده و کیفیت DNA بهتری حاصل می‌شود. به منظور تعیین کمیت و کیفیت DNA از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز در ژل آگارز استفاده شد و در نهایت نمونه‌های یکسانی از DNA ژنومی ارقام با غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر تهیه شد.

انتخاب مکان‌های ریزماهواره

تعداد ۱۵ نشانگر ریزماهواره مربوط به هلو که در گزارش‌های قبلی چند شکلی خوبی را در مطالعات مولکولی بادام نشان داده بودند (Testolin *et al.*, 2000؛ Cipriani *et al.*, 1999؛ Dirlewanger *et al.*, 2002) انتخاب شدند. با استفاده از این مکان‌ها، تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ارقام و ژنوتیپ‌های بادام ایرانی و خارجی بررسی شد.

واکنش PCR

اجرای واکنش PCR با حجم ۲۵ میکرو لیتر بر اساس روش سانچز- پرز و همکاران (Sanchez-Perez *et al.*, 2005) تهیه و شرایط PCR شامل غلظت‌های مورد استفاده و نیز چرخه‌های حرارتی بهینه‌سازی شد.

الکتروفورز محصول PCR

تفکیک محصولات PCR تکثیر شده به وسیله آغازگرهای ریزماهواره به کمک سیستم الکتروفورز افقی و در ژل آگارز متافور سه درصد ساخت شرکت بیوویتاکر (آمریکا) حاوی اتیدیوم بروماید (۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) در بافر 1XTBE انجام شد. پس از آن باندهای تکثیر شده در زیر نور ماورابنفش آشکار و عکس‌برداری از آن‌ها توسط دستگاه ژل داک مدل SYNGENE انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

امتیازدهی باندها به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) انجام شد. ژنوتیپ‌های دارای یک باند، هموزیگوت و ژنوتیپ‌های

دارای دو باند، هتروزیگوت در نظر گرفته شدند.

به منظور ارزیابی کارآیی نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده، معیارهای مختلفی از قبیل درصد هتروزیگوسیتی، میزان اطلاعات چند شکلی (Polymorphic Information Content)، قدرت تفکیک کنندگی (Discrimination Power)، میزان تنوع و تمایز ژنتیکی محاسبه شد. معیارهای مربوط به محتوای اطلاعات مکان‌ها از جمله قدرت تفکیک کنندگی (DP) و محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) با توجه به روابط مربوطه محاسبه شد. از آلل‌های تعیین شده در مکان ریزماهواره برای افراد گیاهی مورد مطالعه، جهت محاسبه پارامترهای ژنتیکی شامل شاخص‌های تغییرات، تنوع، تمایز ژنتیکی، فاصله ژنتیکی و همچنین فراوانی آللی، تعداد آلل‌های موثر، تعداد آلل به ازای هر مکان ژنی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار از نرم افزار POPGENE (Yeh *et al*., 1997) استفاده شد. به این منظور تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر مکان ریزماهواره (N_a)، تعداد آلل‌های موثر در هر مکان ریزماهواره (N_e)، فراوانی آلل غالب (F_{ma}) و آلل‌های نادر (N_r) به عنوان شاخصی از تغییرات و نوسانات ژنتیکی محاسبه شدند (Kimura and Crow, 1964). به منظور تعیین میزان تنوع ژنتیکی، شاخص‌های هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و مورد انتظار (H_e) محاسبه شد (Shannon and Weaver, 1949؛ Nei, 1973). تعیین هتروزیگوسیتی در هر رقم به صورت تعداد مکان‌های هتروزیگوت (H_L) در آن رقم به تعداد کل مکان‌های ریزماهواره (T_L) مورد بررسی از رابطه ($H= H_L / T_L$) محاسبه شد (Martinez-Gomez *et al*., 2003a). اندازه‌گیری فاصله و شباهت ژنتیکی بر اساس ماتریس داده‌های صفر و یک با ضرایب ژاکارد، دایس و تطابق ساده انجام شد. در نهایت گروه‌بندی بر اساس ضریب تشابه دایس با استفاده از آنالیز خوشه‌ای (تجزیه خوشه) به روش میانگین ریاضی گروه‌های جفتی وزن نشده (Unweighted Paired Group Method Using Aritmatic Average) با نرم‌افزار مگا نسخه ۴ (MEGA4) انجام شد (Tamura *et al*., 2007) و ضریب کوفنتیکی به منظور تعیین برازش ماتریس تشابه و دندروگرام حاصله مورد محاسبه قرار گرفت.

نتایج و بحث

شاخص‌های تغییرات آللی

بررسی تنوع و روابط ژنتیکی ۵۳ رقم و ژنوتیپ بادام (جدول ۱) با استفاده از ۱۵ مکان ریزماهواره (جدول ۲)، در مجموع ۱۳۱ آلل با میانگین ۸/۷۳ آلل در هر مکان ریزماهواره را آشکار کرد (جدول ۳). بیشترین تعداد آلل برابر ۱۳ و مربوط به مکان BPPCT 010 و

جدول ۱- ارقام بادام ایرانی و خارجی مورد بررسی در این پژوهش

Table 1. Almond cultivars from Iran and foreign countries evaluated in this study

No.	Cultivars	رقم	Abv.	Origin	منشا
1	Rabie	ربیع	Rabie	Iran	ایران
2	Yalda	یلدا	Yalda	Iran	ایران
3	Marcona	مارکونا	Marcona	Spain	اسپانیا
4	Nonpareil	نان پاریل	Nonpa	America	آمریکا
5	Shekoofe	شکوفه	Shekfe	Iran	ایران
6	Shahrood12	شاهرود ۱۲	Sh12	UN.	نامشخص
7	Shahrood16	شاهرود ۱۶	Sh16	UN.	نامشخص
8	Azar	آذر	Azar	Iran	ایران
9	Shahrood13	شاهرود ۱۳	Sh13	UN.	نامشخص
10	Shahrood18	شاهرود ۱۸	Sh18	UN.	نامشخص
11	Shahrood17	شاهرود ۱۷	Sh17	UN.	نامشخص
12	Ferragnes	فرانیس	Ferragn	France	فرانسه
13	Shahrood21	شاهرود ۲۱	Sh21	UN.	نامشخص
14	Shahrood15	شاهرود ۱۵	Sh15	UN.	نامشخص
15	Shahrood7	شاهرود ۷	Sh7	UN.	نامشخص
16	Shahrood-8-2	شاهرود ۸-۲	Sh8-2	UN.	نامشخص
17	Shahrood6	شاهرود ۶	Sh6	UN.	نامشخص
18	Shahrood-10-2	شاهرود ۱۰-۲	Sh10-2	UN.	نامشخص
19	Shahrood1	شاهرود ۱	Sh1	UN.	نامشخص
20	Shahrood2	شاهرود ۲	Sh2	UN.	نامشخص
21	Shahrood3	شاهرود ۳	Sh3	UN.	نامشخص
22	Shahrood4	شاهرود ۴	Sh4	UN.	نامشخص
23	Shahrood5	شاهرود ۵	Sh5	UN.	نامشخص
24	Shahrood8-1	شاهرود ۸-۱	Sh8-1	UN.	نامشخص
25	Shahrood9	شاهرود ۹	Sh9	UN.	نامشخص
26	Shahrood10-1	شاهرود ۱۰-۱	Sh10-1	UN.	نامشخص
27	Shahrood11	شاهرود ۱۱	Sh11	UN.	نامشخص
28	Shahrood14	شاهرود ۱۴	Sh14	UN.	نامشخص
29	Shahrood19	شاهرود ۱۹	Sh19	UN.	نامشخص
30	Shahrood22	شاهرود ۲۲	Sh22	UN.	نامشخص
31	K-10-15	کا- ۱۰-۱۵	K-10-15	Iran	ایران
32	K-1-16	کا-۱-۱۶	K-1-16	Iran	ایران
33	K-2-29	کا-۲-۲۹	K-2-29	Iran	ایران
34	K-10-11	کا-۱۰-۱۱	K-10-11	Iran	ایران
35	K-11-40	کا-۱۱-۴۰	K-11-40	Iran	ایران
36	K-16-8	کا-۱۶-۸	K-16-8	Iran	ایران
37	K-12-4	کا-۱۲-۴	K-12-4	Iran	ایران

UN: Unknown

ادامه جدول ۱ Table 1. Continued

No.	Cultivars	رقم	Abv.	Origin	منشا
38	Supernova	سوپرنوا	Supern	Italy	ایتالیا
39	Frageillo	فرانجیلو	Frageil	Italy	ایتالیا
40	A200	آ۲۰۰	A200	Spain	اسپانیا
41	A230	آ۲۳۰	A230	Spain	اسپانیا
42	Harir	حریر	Harir	Iran	ایران
43	Sahand	سهند	Sahand	Iran	ایران
44	Zarghan7	زرقان ۷	Zar7	UN.	نامشخص
45	Zarghan8	زرقان ۸	Zar8	UN.	نامشخص
46	Neyriz1	نی‌ریز ۱	Neyriz-1	Iran	ایران
47	Jeffries	جفریز	Jeffries	America	آمریکا
48	Peerless	پیرلس	Peerless	America	آمریکا
49	Ruby	روبی	Ruby	America	آمریکا
50	Ne Plus Ultra	نوپلوس اولترا	Neplus	America	آمریکا
51	Monterey	مونتری	Monterey	America	آمریکا
52	Price	پرایس	Price	America	آمریکا
53	Sonora	سونورا	Sonora	America	آمریکا

UN: Unknown

کمترین تعداد آلل برابر چهار مربوط به مکان UDP97-403 بود. میانگین تعداد آلل مشاهده شده در هر مکان بیشتر از عدد گزارش شده به ازای هر مکان در گونه هلو (گونه مرجع) بود (جدول ۳) که در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده بود (Testolin *et al*., 2000؛ Cipriani *et al*., 1999؛ Dirlewanger *et al*., 2002). بر اساس نتایج، تعداد آلل در هر مکان ریزماهواره برای بادام در مقایسه با تعداد آلل برای گونه اصلی هلو بیشتر بود (جدول ۳) که با نتایج پنج تا هشت آلل در هر مکان ژنی در بادام و نیز یک تا سه عدد آلل در هر مکان ژنی برای ارقام هلو (Martinez-Gomez *et al*., 2003a, b) و تعدادآلل مشاهده شده در برخی ارقام بادام بین سه تا ۱۰ آلل در هر مکان ژنی با میانگین۶/۶۴ توسط شیران وهمکاران (Shiran *et al*., 2007) مطابقت دارد.

زین‌العابدینی (Zeinolabedini, 2008) گزارش کرد با استفاده از ژل آگارز متافور تعداد ۱۳۵ آلل در ۷۰ رقم بادام مورد مطالعه به کمک نشانگرهای ریزماهواره تکثیر شد که تعداد آلل تولید شده به وسیله این نشانگرها در ارقام مورد بررسی از پنج تا ۱۵ با میانگین تعداد نه آلل در هر مکان متغیر بود. به عنوان مثال، کمترین تعداد آلل در ارقام بادام در نشانگرUDP96008 (پنج آلل) و بیشترین آن در نشانگر BPPCP010 (۱۵ آلل) مشاهده شد.

فتحی و همکاران (Fathi *et al*., 2008) گزارش کردند با استفاده از ۲۵ نشانگر

جدول۲- مشخصات نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام بادام

Table 2. Characterization of microsatellite markers used to study genetic diversity among almond cultivars

مکان Locus	توالی آغازگر Primer Sequence	موتیف Motif*	دمای اتصال Annealing temp. (°C)**	منبع Reference
BPPCT 001	F: AAT TCC CAA AGG ATG TGT ATG AG R: CAG GTG AAT GAG CCA AAG C	(GA)27	57	Dirlewanger *et al*. (2002)
BPPCT 007	F: TCA TTG CTC GTC ATC AGC R: CAG ATT TCT GAA GTT AGC GGT A	(AG)22 (CG)2 (AG)4	57	Dirlewanger *et al*. (2002)
BPPCT 010	F: AAA GCA CAG CCC ATA ATG C R: GTA CTG TTA CTG CTG GGA ATG C	(AG)4 GG(AG)10	57	Dirlewanger *et al*. (2002)
BPPCT 015	F: ATG GAA GGG AAG AGA AAT CG R: GTC ATC TCA GTC AAC TTT TCC G	(AG)13	57	Dirlewanger *et al*. (2002)
BPPCT 037	F: CAT GGA AGA GGA TCA AGT GC R: CTT GAA GGT AGT GCC AAA GC	(GA)25	57	Dirlewanger *et al*. (2002)
BPPCT 038	F: TAT ATT GTT GGC TTC TTG CAT G R: TGA AAG TGA AAC AAT GGA AGC	(GA)25	57	Dirlewanger *et al*. (2002)
UDP96-003	F: TTG CTC AAA AGT GTC GTT GC R: ACA CGT AGT GCA ACA CTG GC	(CT)11(CA)28	57	Cipriani *et al*. (1999)
UDP96-008	F: TTG TAC ACA CCC TCA GCC TG R: TGC TGA GGT TCA GGT GAG TG	(CA)23	55	Cipriani *et al*. (1999)
UDP97-403	F: CTG GCT TAC AAC TCG CAA GC R: CGT CGA CCA ACT GAG ACT CA	(AG)22	57	Cipriani *et al*. (1999)
UDP98-405	F: ACG TGA TGA ACT GAC ACC CA R: GAG TCT TTG CTC TGC CAT CC	(AG)9	57	Cipriani *et al*. (1999)
UDP98-406	F: TCGGAAACTGGTAGTATGAACAGA R: ATGGGTCGTATGCACAGTCA	(AG)15	57	Cipriani *et al*. (1999)
UDP98-409	F: GCT GAT GGG TTT TAT GGT TTT C R: CGG ACT CTT ATC CTC TAT CAA CA	(AG)19	57	Cipriani *et al*. (1999)
UDP98-410	F: AATTTACCTATCAGCCTCAAA R: TTT ATG CAG TTT ACA GAC CG	(AG)23	50	Testolin *et al*. (2000)
UDP98-024	F: CCT TGA TGC ATA ATC AAA CAG C R: GGA CAC ACT GGC ATG TGA AG	(GT)19TC (TG)7	57	Testolin *et al*. (2000)
UDP98-025	F: GGG AGG TTA CTA TGC CAT GAA G R: CGC AGA CAT GTA GTA GGA CCT C	(CA)19	57	Testolin *et al*. (2000)

* توالی تکرار شونده Repeated sequence

** دمای مورد نیاز جهت اتصال آغازگر Required temperature for annealing primer

جدول ۳- تغییرات اندازه و تعداد آلل در مکان‌های ریزماهواره

Table 3. Changes in the size and number of alleles in microsatellite loci

Locus/مکان	دامنه اندازه آلل (جفت باز) Range of size allele (bp)		تعداد آلل مشاهده شده Number of observed alleles (Na)		تعداد آلل موثر Number of effective alleles (Ne)	تعداد آلل نادر Number of rare alleles (Nr)	فراوانی آلل غالب Frequency of dominant allele (Fma)
	*Almond/بادام	**Peach/هلو	*Almond/بادام	**Peach/هلو			
UDP96-003	86-145	124-144	11	6	6.736	4	0.255
UDP96-008	128-173	123-165	6	3	3.835	1	0.434
UDP97-403	146-155	146-154	4	5	2.666	1	0.453
UDP98-024	111-175	111-127	8	4	4.494	3	0.330
UDP98-025	105-151	101-141	8	4	4.080	3	0.406
UDP98-405	101-147	110-115	10	2	7.511	2	0.208
UDP98-406	90-135	100-120	8	5	4.985	4	0.340
UDP98-409	128-150	126-143	8	5	4.736	3	0.327
UDP98-410	140-195	146-182	11	8	8.108	5	0.221
BPPCT-001	150-173	132-163	10	8	7.857	2	0.160
BPPCT-007	140-155	143-151	6	4	4.445	1	0.245
BPPCT-010	150-173	129-131	13	6	11.373	3	0.113
BPPCT-015	158-205	154-222	9	9	5.533	3	0.256
BPPCT-037	150-185	146-156	9	5	4.263	4	0.415
BPPCT-038	102-190	127-143	10	7	8.108	2	0.164
Average/میانگین	122-162	128-151	8.733	5.4	5.915	2.73	0.288

*: گونه مورد مطالعه دراین تحقیق

**: گونه مرجع که نشانگرهای ریزماهواره از آن گونه استخراج ومعرفی شده‌اند

*: Species studied in this investigation

**: Species reference that microsatellite markers were extracted and introduce from it

ریزماهواره در مجموع ۲۱۵ آلل تکثیر شد که از دو تا ۱۶ عدد آلل در هر مکان با میانگین ۸/۷۶ متغیر بود. فرناندز آی مارتی و همکاران (Fernandez i Marti *et al*., 2009) چهار تا ۳۳ آلل با میانگین ۱۷ آلل در هر مکان را گزارش کردند. زین‌العابدینی و همکاران (Zeinolabedini *et al*., 2010) تعداد آلل بین نه تا ۱۹ با میانگین ۱۴/۵ آلل در هر مکان راگزارش کردند. همچنین تعداد آلل از ۱۲ تا ۲۳ آلل در هر مکان با میانگین ۱۵/۹ آلل در هر مکان توسط گوتا و همکاران (Gouta *et al*., 2010) گزارش شده است.

در تحقیق دیگری با استفاده از ۱۶ جفت نشانگر ریزماهواره در مجموع ۲۳۵ آلل با متوسط اندازه بین ۸۵ تا ۲۵۲ جفت باز و تعداد آلل بین چهار تا ۲۴ آلل در هر مکان با میانگین ۱۴/۶۳ آلل در هر مکان گزارش شده است (Elhamzaoui *et al*., 2013). این اختلافات را می‌توان به فاکتورهای مختلفی از جمله اندازه نمونه، میزان تنوع در نمونه‌ها، روش آشکارسازی و ارزیابی اندازه قطعات نسبت داد. تعداد آلل‌های تکثیر شده به ازای هر مکان تاثیر مستقیمی بر بازدهی آن مکان در تظاهر هتروزیگوسیتی، فراوانی ژنوتیپی و محتوای اطلاعات چند شکلی دارد که بالا بودن تعداد آلل‌های تکثیر شده در یک مکان سبب افزایش کارایی و میزان چند شکلی آن مکان برای تعیین تنوع ارقام می‌شود.

دامنه اندازه آلل بین ۷۵ تا ۲۰۵ جفت باز در بین کل مکان‌های ریزماهواره متغیر بود و دامنه اندازه آلل‌ها در بیشتر مکان‌های مورد مطالعه در بادام بیشتر از گونه اصلی یعنی هلو بود (جدول ۳) که توسط دارلی وانگر و همکاران (Dirlewanger *et al*., 2002)، سیپریانی و همکاران (Cipriani *et al*., 1999) و تستولین و همکاران (Testolin *et al*., 2000) گزارش شده است. دامنه اندازه باندهای بزرگ‌تر با مکان‌های ریزماهواره هلو در مطالعات قبلی در گونه بادام (Zeinolabedini *et al*., 2010؛ Martinez-Gomez *et al*., 2003a؛ Shiran *et al*., 2007) و زردآلو (Sanchez-Perez *et al*., 2005) گزارش شده است. همچنین دامنه اندازه آلل‌ها با مکان‌های ریزماهواره در گونه بادام بین ۸۸ تا ۲۶۰ (Fernandez i Marti *et al*., 2009)، بین ۱۱۱ تا ۲۴۰ (Zeinolabedini *et al*., 2012)، بین ۸۵ تا ۲۵۲ (Elhamzaoui *et al*., 2013) گزارش شده است.

تعداد آلل موثر در هر مکان ژنی (N_e)، به طور قابل توجهی کمتر از تعداد آلل مشاهده شده بود. بیشترین تعداد آلل موثر مربوط به مکان BPPCT 010 با ۱۱/۳۷۳ و کمترین تعداد آلل موثر مربوط به مکان UDP97-403 با ۲/۶ و میانگین تعداد آلل موثر ۵/۹۱۵ در هر مکان بود. برای مثال تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na) در ارقام بادام در مکان BPPCP010، ۱۳ عدد بود، درصورتی‌که تعداد آلل موثر (Ne) در این مکان ۱۱/۳۷۳برآورد شد (جدول‌های ۲ تا ۵).

در همین ارتباط زین‌العابدینی (Zeinolabedoni, 2008) گزارش کرد تعداد آلل موثر در ارقام بادام در دامنه ۱/۹۱۸ مربوط به مکان CPPCT022 تا ۱۰/۵۹۴ مربوط به مکان BPPCP010 قرار دارد. از طرفی زین‌العابدینی و همکاران (Zeinolabedini *et al.*, 2012) تعداد آلل موثر در ارقام بادام را بین ۱/۶ تا ۴/۱۴ با میانگین ۲/۶۷ در هر مکان گزارش کردند.

نتایج نشان داد تعداد آلل نادر(Nr) در مکان‌های مورد بررسی بین یک تا سه با میانگین ۲/۷۳ برای هر مکان متغیر بود (جدول ۳). تعداد آلل نادر بین یک تا چهار آلل در بادام توسط زین‌العابدینی (Zeinolabedoni, 2008) گزارش شده است. حضور تعداد زیاد آلل‌های نادر می‌تواند نشان‌دهنده نسبت بالای جهش در مکان‌های ژنی ریزماهواره و یا تنوع در منابع ژنتیکی نمونه‌های مورد استفاده باشد. البته دلیل دیگر این امر نیز استفاده از نشانگرهایی با واحدهای تکراری دو نوکلئوتیدی است. آگاهی از وجود چنین آلل‌هایی می‌تواند در شناسائی ژرم پلاسم‌ها و منابع ژنتیکی جدید مفید باشد، از این‌رو ارقام بادام و گونه‌های خویشاوند واجد این آلل‌ها می‌توانند منبع مهمی در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان در آینده باشند.

فراوانی آلل غالب برای هر مکان بین ۰/۱۱ مر بوط به مکان BPPCT 010 تا ۰/۴۵۳ مربوط به مکان UDP97 403 و با میانگین ۰/۲۸۸ به ازای هر مکان ریزماهواره بود (جدول ۳). در همین ارتباط دی استفانو و همکاران (Distefano *et al.*, 2013) میانگین فراوانی آلل غالب به ازای هر مکان در ارقام بادام را ۰/۲۴ گزارش کردند.

شاخص‌های تنوع ژنتیکی

طبق نتایج محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) برای نشانگرهای ریزماهواره برای ارقام بادام مورد مطالعه بین ۰/۶۵۲ مربوط به مکان UDP97-403 تا ۰/۹۱۱ مربوط به مکان BPPCP010 با میانگین ۰/۷۶۹ متغیر بود (جدول ۴). بالا بودن محتوای اطلاعات چندشکلی نشان‌دهنده این است که می‌توان از این نشانگر در تمایز ژنوتیپ‌هایی با خویشاوندی نزدیک استفاده کرد. محتوای اطلاعات چندشکلی در بین مکان‌های ریزماهواره برای ارقام بادام از ۰/۷۴ تا ۰/۹۲ و ۰/۳۸ تا ۰/۷۲ با میانگین ۰/۵۹ در هر مکان (Zeinolabedoni *et al.*, 2012) گزارش شده است. زین‌العابدینی (۲۰۰۸) گزارش کرد محتوای اطلاعات چندشکلی برای نشانگرهای ریزماهواره برای ارقام بادام بین ۰/۴۴۸ (مکان CPPCT022) تا ۰/۸۹۸ (مکان BPPCP010) با میانگین ۰/۷۶۹ متغیر بود که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. در همین ارتباط دی استفانو و همکاران (Distefano *et al.*, 2013) گزارش کردند مکان UDP9841 با تعداد ۱۹ آلل و محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۹۱ یکی از مکان‌های موثر در گروه‌بندی ارقام بود. با

مقایسه میزان PIC و نیز تعداد آلل می‌توان دریافت که نشانگرهایی با تعداد آلل بیشتر از میزان PIC بالاتری نیز برخوردار هستند. با توجه به بالا بودن میزان اطلاعات چندشکلی می‌توان از نشانگرهای فوق در تفکیک و تمایز ارقام بادام و گونه‌های خویشاوند استفاده کرد.

قدرت تفکیک‌کنندگی (PD)، احتمال شناسایی رقم‌ها را توسط یک نشانگر نشان می‌دهد و میزان PD رابطه مستقیم با میزان چند شکلی مکان ریزماهواره دارد. به عبارت دیگر، میزان قدرت تفکیک‌کنندگی بیانگر احتمال متفاوت بودن ژنوتیپ دو فرد است که به طور تصادفی از یک جمعیت انتخاب شده‌اند. پایین‌ترین قدرت تفکیک مربوط به مکان UDP97 403 (۰/۵) و بالاترین قدرت تفکیک مربوط به مکان BPPCT 010 (۰/۹۳) و میانگین قدرت تفکیک نیز در هر مکان برابر ۰/۷۷ بود (جدول ۴) که از میانگین قدرت تفکیک آغازگرهای مذکور در هلو بیشتر (۰/۵۴) و به میانگین قدرت تفکیک همین آغازگرها در گیلاس (۰/۷۲) نزدیک بود (Dirlewanger *et al.*, 2002). متوسط قدرت تفکیک‌کنندگی به میزان ۰/۷۷ برای نشانگرهای ریزماهواره دور از انتظار نیست و بیانگر چند شکلی بالا در مکان‌های ریزماهواره مورد مطالعه می‌باشد. زین‌العابدینی (۲۰۰۸) گزارش کرد بالاترین مقدار PD در مکان ژنی UDP97402، ۰/۹۸۵ و کمترین مقدار PD در مکان ژنی UDP96008، ۰/۶۶۷ و میانگین این پارامتر برای همه مکان‌های ژنی برابر ۰/۸۹۱ در ارقام بادام مورد مطالعه بوده است. همچنین قدرت تفکیک‌کنندگی (PD) دربین مکان‌های ریزماهواره در ارقام بادام بین ۰/۴۸ تا ۰/۹۵ با میانگین ۰/۸۰ (Zeinolabedoni *et al.*, 2010) گزارش شده است.

ال همزویی و همکاران (Elhamzaoui *et al.*, 2013) گزارش کردند میانگین قدرت تفکیک‌کنندگی و محتوای اطلاعات چندشکلی در مکان‌های ریزماهواره در ارقام بادام به ترتیب ۰/۸۶۸ و ۰/۷۶۳ بود و مکان CPSCT018 با قدرت تفکیک‌کنندگی ۰/۹۷۹ و محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۹۲۱ یکی از مکان‌های موثر در گروه‌بندی ارقام بود. در مجموع درصد بالای مکان‌های ژنی چندشکل، میانگین تعداد آلل در هر مکان ژنی، میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و میانگین PD مشاهده شده نشان می‌دهد که نشانگرهای ریزماهواره هلو می‌توانند در شناسایی تنوع ژنتیکی، روابط ژنتیکی و نیز ارزیابی هتروزیگوسیتی در بادام و گونه‌های دیگر خویشاوند آن مورد استفاده قرار گیرند.

ارزیابی ملکولی سطح هتروزیگوسیتی اهمیت بسزایی در برنامه‌های به‌نژادی دارد (Sanchez-Perez *et al.*, 2006). میزان تنوع ژنی یا هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) در مکان‌های مورد مطالعه در جدول۴ آورده شده است. براساس این نتایج بیشترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار متعلق به مکان BPPCT 010

جدول ۴- شاخص‌های تنوع ژنتیکی در مکان‌های ریزماهواره مورد بررسی
Table 4. Indices of genetic diversity in studied microsatellite loci

مکان/Locus	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)	قدرت تفکیک کنندگی (PD)	میزان اطلاعات چند شکلی (PIC)
UDP96-003	0.642	0.860	0.90	0.8559
UDP96-008	0.434	0.746	0.65	0.7268
UDP97-403	0.094	0.631	0.50	0.6522
UDP98-024	0.472	0.785	0.72	0.8100
UDP98-025	0.472	0.762	0.75	0.7794
UDP98-405	0.415	0.875	0.85	0.8619
UDP98-406	0.528	0.807	0.78	0.8119
UDP98-409	0.346	0.797	0.77	0.8078
UDP98-410	0.615	0.885	0.91	0.8844
BPPCT-001	0.302	0.881	0.81	0.8687
BPPCT-007	0.547	0.782	0.62	0.7711
BPPCT-010	0.884	0.921	0.93	0.9110
BPPCT-015	0.667	0.829	0.78	0.8364
BPPCT-037	0.642	0.773	0.81	0.7792
BPPCT-038	0.775	0.885	0.90	0.8769
Average	0.522	0.815	0.77	0.8161

(۰/۹۲۱) وکمترین هتروزیگوسیتی مورد انتظار مربوط به مکان UDP97-403 (۰/۶۳۱) بود. همچنین میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار برای ارقام و ژنوتیپ‌های بادام در مکان‌های مورد مطالعه ۰/۸۱۵ بود که با سیستم آزاد گرده‌افشانی و خودناسازگاری در بادام تطابق دارد. زین‌العابدینی (۲۰۰۸) بیشترین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار را در نشانگر BPPCP010 (۰/۹۰۵) و کمترین مقدار را در نشانگر CPPCT022 (۰/۴۷۸) و میانگین تنوع ژنی در هر مکان را ۰/۷۹۱ گزارش کرد. فتحی و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند میانگین مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار در مکان‌های ریزماهواره ۰/۶۹۷ بود که بیانگر خاصیت دگرگشنی در بادام است.

مقادیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) از ۰/۰۹۴ در مکان DP97 403 تا ۰/۸۸۴ در مکان BPPCT 010 متغیر بود و میانگین این شاخص برای تمام مکان‌های مطالعه شده برابر ۰/۵۱۲ بود (جدول ۴). زین‌العابدینی (۲۰۰۸) گزارش کرد به ترتیب در ارقام بادام مکان UDP96003 (۰/۵۱۴) و در گونه‌های خویشاوند مکان UDP96005 (۰/۴۶۵) دارای بالاترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مکان‌های UDP96008 (۰/۰۱۴) و CPPCT008 (۰/۱۶۲) دارای پائین‌ترین میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بودند. همچنین ال‌همزویی و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی ارقام بادام میزان هتروزگوسیتی مشاهده شده را بین ۰/۰۴۵ در مکان BPPCT027 تا ۰/۹۱۶ در مکان CPSCT018 گزارش کردند. دی استفانو و همکاران (۲۰۱۳) میزان هتروزیگوسیتی مشاهده

شده را بین ۰/۴۳ در مکان CPDCT038 تا ۰/۹۴ در مکان UDP9841 گزارش کردند که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارند. در همین رابطه زین‌العابدینی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند هتروزیگوتی قابل انتظار بین ۰/۷۶ (مکان BPPCP011) و ۰/۹۲ (مکان‌های UPP96005 و UDP96003) با میانگین ۰/۸۷ بین مکان‌ها متفاوت بود و هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۰/۲۱ (مکان‌های CPPCT008، CPPCT022 و CPPCT030) تا ۰/۵۵ (مکان‌های UDP96005 و UDP98410) با میانگین ۰/۳۱ متغیر بود. زین‌العابدینی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند در ارقام بادام هتروزیگوسیتی قابل مشاهده بین ۰/۰۴ تا ۰/۸۲ با میانگین ۰/۴۰ و هتروزیگوسیتی قابل انتظار (He) بین ۰/۳۷ تا ۰/۷۶ با میانگین ۰/۵۹ در هر مکان متغیر بود. اگر مقایسه بین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) انجام شود آشکار می‌شود که در همه مکان‌ها هتروزیگوسیتی مورد انتظار از هتروزیگوسیتی مشاهده شده، بیشتر بود (جدول ۴) که احتمالا به علت وجود آلل‌های خنثی است. میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده از میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار کمتر بود که با یافته‌های شیران و همکاران (۲۰۰۷)، زین‌العابدینی و همکاان (۲۰۱۰) و ال همزویی و همکاران (۲۰۱۲ و ۲۰۱۳) مطابقت دارد. البته پایین بودن میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده در مقابل هتروزیگوسیتی مورد انتظار می‌تواند دلیلی بر وقوع پدیده اینبریدینگ (Inbreeding)، هموزیگوسیتی، وجود ارقام و گونه‌های خودسازگار نیز باشد. مقایسه شاخص تنوع ژنی (میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار) و میزان اطلاعات چندشکلی نشان داد که نشانگرهایی با تنوع ژنتیکی بالا دارای میزان اطلاعات چندشکلی بالایی نیز هستند. این امر دلیلی بر همبستگی بالای این دو شاخص است، به طوری که در گونه‌های هموزیگوت میزان این دو شاخص برابر است. البته بالا بودن میزان این پارامتر در گونه‌های خویشاوند را می‌توان به تنوع ژنتیکی بالای موجود در گونه‌های گیاهی مختلف مورد بررسی نسبت داد (Zeinolabedoni, 2008). دلیل این مطلب را می‌توان تکامل ناشی از رانده شدن ژنتیکی، وقوع اینبریدینگ و نیز دورگ گیری‌هایی میان و بین گونه‌ای، که منجر به حصول ژنوتیپ‌های جدید می‌شود دانست.

نتایج نشان داد که مکان BPPCT 010 با تعداد۱۳ آلل با اطلاعات چند شکلی بالا (PIC = ۰/۹۱)، قدرت تفکیک کنندگی بالا (۰/۹۱) و هتروزیگوتی قابل مشاهده (۰/۸۸۵) و قابل انتظار (۰/۹۲۱) بالا یکی از مکان‌هایی با چند شکلی بالا است که کارآمدی این مکان نشانگر توسط دیگران در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده است (Zeinolabedini *et al.*, 2007؛ Shiran *et al.*, 2007). ژی و همکاران (Xie *et al.*, 2006) گزارش کردند که مکان

BPPCT 010 در مقایسه با سایر مکان‌های ریزماهواره ژنومی و EST، قدرت تفکیک، تعداد آلل و هتروزیگوتی مشاهده شده بالاتری نشان داد و این مکان یکی از مکان‌های با چند شکلی بالا در بین مکان‌های ژنومی ریزماهواره است که همسو با نتایج این تحقیق است. بر اساس نتایج این تحقیق (جدول‌های ۳ و ۴) مکان ریزماهواره BPPCT 001 با تعداد ۱۰ آلل مشاهده شده، با هتروزیگوتی قابل مشاهده (۰/۳۰۲) و قابل انتظار (۰/۸۸۱)، با قدرت تفکیک‌کنندگی ۰/۸۱، میزان اطلاعات چند شکلی (۰/۸۶) و دامنه اندازه آلل ۱۷۳-۱۵۰ جفت باز یکی دیگر از مکان‌های با چند شکلی بالا در بین مکان‌های ژنومی ریزماهواره است که با یافته‌های شیران و همکاران (۲۰۰۷) با تفکیک بر روی ژل پلی اکریل آمید هم‌خوانی داشت. نتایج نشان داد که این مکان‌های ریزماهواره استخراج شده از هلو قابلیت بالایی در مطالعات مولکولی و روابط ژنتیکی در بادام دارند که با نتایج گزارش شده توسط سایر محققین که بیان داشتند مکان‌های ریزماهواره استخراج شده از هلو قابلیت بالایی در تفکیک ارقام بادام و گونه‌های خویشاوند دارند مطابقت دارد (Zeinolabedini *et al.*, 2007؛ Shiran *et al.*, 2007؛ Cipriani *et al.*, 1999).

میزان هتروزیگوسیتی ارقام بادام مورد مطالعه

میزان هتروزیگوسیتی هر رقم به صورت تعداد مکان‌های هتروزیگوت در آن رقم به تعداد کل مکان‌های ریزماهواره مورد مطالعه محاسبه شد (Martinez-Gomez *et al.*, 2003a). نتایج هتروزیگوسیتی بین ارقام (جدول ۵) نشان داد که دامنه تغییرات هتروزیگوسیتی از ۰/۲۰ برای ارقام کا-۲-۲۹ و آ۲۳۰ تا ۰/۷۳ برای ارقام یلدا، نوپلوس اولترا، فرانیس، شاهرود ۱۲، شاهرود ۲۱، شاهرود ۶، شاهرود ۲ و شاهرود ۱۹ متغیر بود. تغییرات هتروزیگوسیتی در بیشتر ارقام مساوی یا بالاتر از ۰/۵۳ بود که هتروزیگوسیتی نسبتا بالای ارقام بادام به ماهیت خودناسازگاری و دگرگرده افشانی در این گیاه بر می‌گردد. میزان هتروزیگوسیتی در ارقام بادام مورد بررسی در این تحقیق با استفاده از آغازگرهای ریزماهواره هلو (جدول ۲) بیشتر از گونه هلو بود که دلیل آن ماهیت خودناسازگار بودن بادام در مقایسه با هلو است (Martinez-Gomez *et al.*, 2003a). در همین ارتباط شیران و همکاران (۲۰۰۷) میزان هتروزیگوسیتی بین ارقام بادام را از ۰/۲۹ برای رقم شاهرود ۱۲ و فرانیس تا ۰/۷۱ برای ارقام پریمورسکی و IXL با میانگین بالای ۰/۴۳ در اکثر ارقام گزارش کردند.

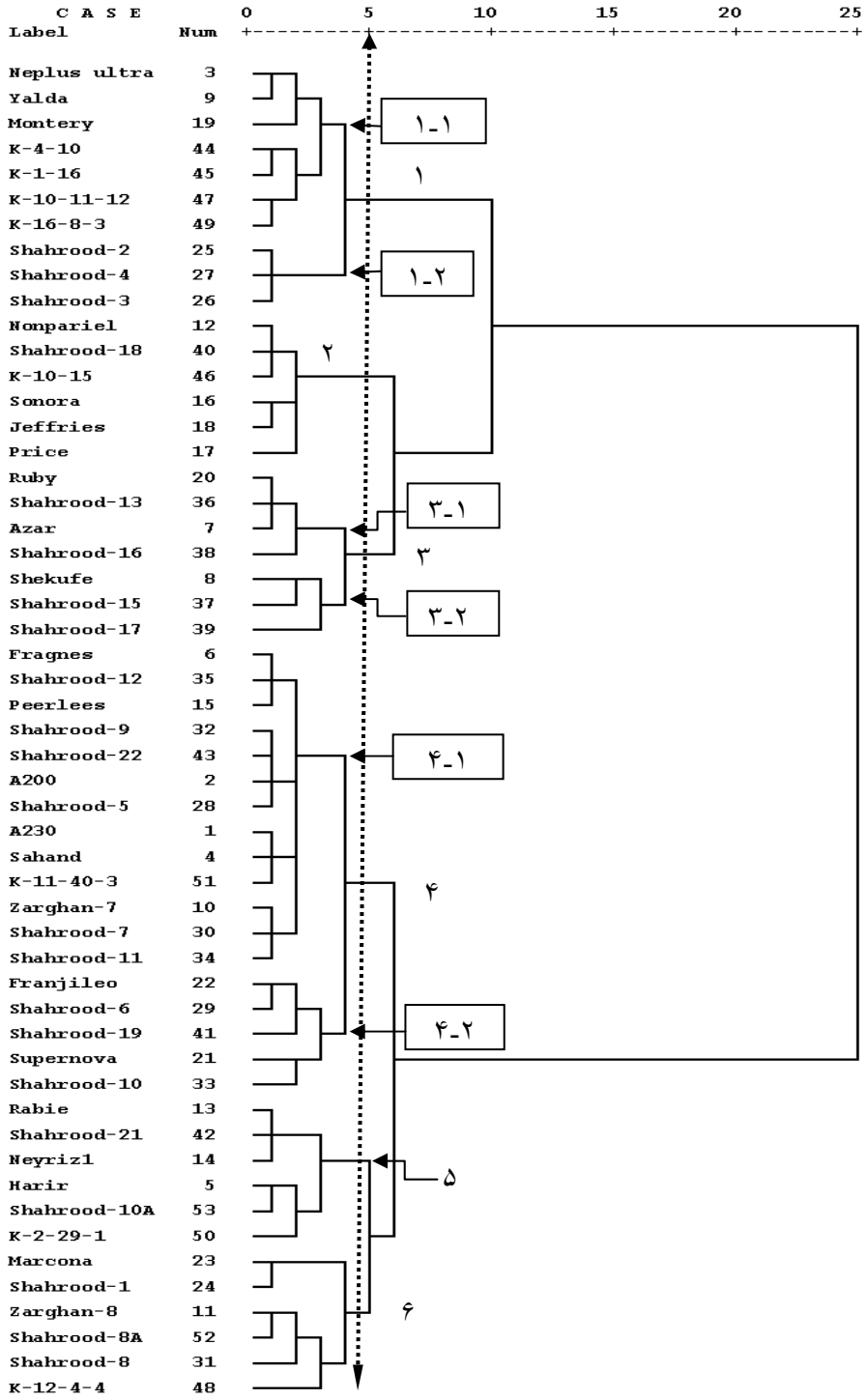
ماتریس تشابه ژنتیکی ارقام

نتایج حاصل از ماتریس تشابه نشان داد که بیشترین شباهت بین رقم یلدا با رقم نوپلوس اولترا (۰/۹۶۳)، رقم شاهرود-۱۲ با رقم فرانیس (۰/۹۴۱)، رقم سهند با رقم زرقان-۸ (۰/۸۶۵) و رقم شاهرود-۱ با رقم مارکونا (۰/۶۲۲) وجود

جدول ۵- میزان هترزیگوسیتی ارقام بادام در مکان‌های ریزماهواره مورد مطالعه
Table 5. Heterozygositiy of almond cultivars in studied microsatellite loci

شماره No.	رقم Cultivar	هتروزیگوسیتی Heterozygosity	شماره No.	رقم Cultivar	هتروزیگوسیتی Heterozygosity	شماره No.	رقم Cultivar	هتروزیگوسیتی Heterozygosity
1	Rabie	0.53	19	Sh1	0.47	37	K-12-4	0.60
2	Yalda	0.73	20	Sh2	0.73	38	Supern	0.40
3	Marcona	0.53	21	Sh3	0.53	39	Frageil	0.53
4	Nonpa	0.60	22	Sh4	0.60	40	A200	0.60
5	Shekfe	0.33	23	Sh5	0.67	41	A230	0.20
6	Sh12	0.73	24	Sh8-1	0.27	42	Harir	0.67
7	Sh16	0.47	25	Sh9	0.47	43	Sahand	0.27
8	Azar	0.33	26	Sh10-1	0.53	44	Zar7	0.53
9	Sh13	0.40	27	Sh11	0.40	45	Zar8	0.27
10	Sh18	0.60	28	Sh14	0.27	46	Neyriz-1	0.47
11	Sh17	0.67	29	Sh19	0.73	47	Jeffries	0.60
12	Ferragn	0.73	30	Sh22	0.40	48	Peerless	0.73
13	Sh21	0.73	31	K-10-15	0.33	49	Ruby	0.53
14	Sh15	0.47	32	K-1-16	0.47	50	Neplus	0.73
15	Sh7	0.53	33	K-2-29	0.20	51	Monterey	0.73
16	Sh8-2	0.67	34	K-10-11	0.47	52	Price	0.67
17	Sh6	0.73	35	K-11-40	0.60	53	Sonora	0.40
18	Sh10-2	0.53	36	K-16-8	0.40			

داشت. کمترین شباهت نیز بین ارقام یلدا و نوپلوس اولترا با رقم شاهرود ۲۲ (۰/۰۳۹)، رقم فرانیس با رقم نان پاریل (۰/۰۴۲) و رقم کا-۱۰-۱۵ با رقم مارکونا (۰/۰۴۷) بود. رقم ایرانی ربیع، شباهت کمی با کلیه ارقام داشت که بیانگر دوری این رقم از سایر ارقام اروپایی و آمریکایی که منشا خارجی دارند و یا برخی ارقام ایرانی از جمله شکوفه و آذر که از طریق تلاقی بین ارقام خارجی به دست آمده‌اند است. رقم یلدا با رقم آمریکایی نوپلوس اولترا، بیشترین شباهت (۰/۹۶۳) را داشت و این رقم با سایر ارقام با منشا آمریکایی از جمله رقم نان پاریل (۰/۴۷۱)، رقم شاهرود ۱۸ (۰/۴۶۲)، رقم مونتری (۰/۶۵۴) و رقم پرایس (۰/۵۴۹) شباهت نسبتا بالایی نشان داد که بیانگر این است که رقم یلدا یک رقم خارجی با منشا آمریکا است و بر اساس شباهت صفات مورفولوژیکی (Mousavi *et al*., 2010) و نتایج مولکولی این تحقیق در واقع رقم یلدا همان رقم نوپلوس اولترا (منشا آمریکا) است. رقم شاهرود ۱۲ و رقم فرانیس (منشا فرانسه) نیز با شباهت ژنتیکی بالا (۰/۹۴) و خصوصیات مورفولوژیکی مشابه به احتمال زیاد یک رقم هستند. وجود تشابه بالا بین ارقام یلدا با نوپلوس اولترا، فرانیس با شاهرود ۱۲ و سهند با زرقان ۸ (شکل ۱) بیانگر این است که این ارقام به احتمال زیاد ژنوتیپ‌های یکسان و یا کلون هستند. وجود مشابهت ژنتیکی بالا بین برخی از ارقام بادام از جمله سفید با منقا، شاهرود ۱۸ با نان پاریل و شاهرود ۱۶ با تاردی نان پاریل توسط شیران و



شکل ۱- دندروگرام مربوط به گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام بر اساس صفات مورفولوژیکی به روش وارد

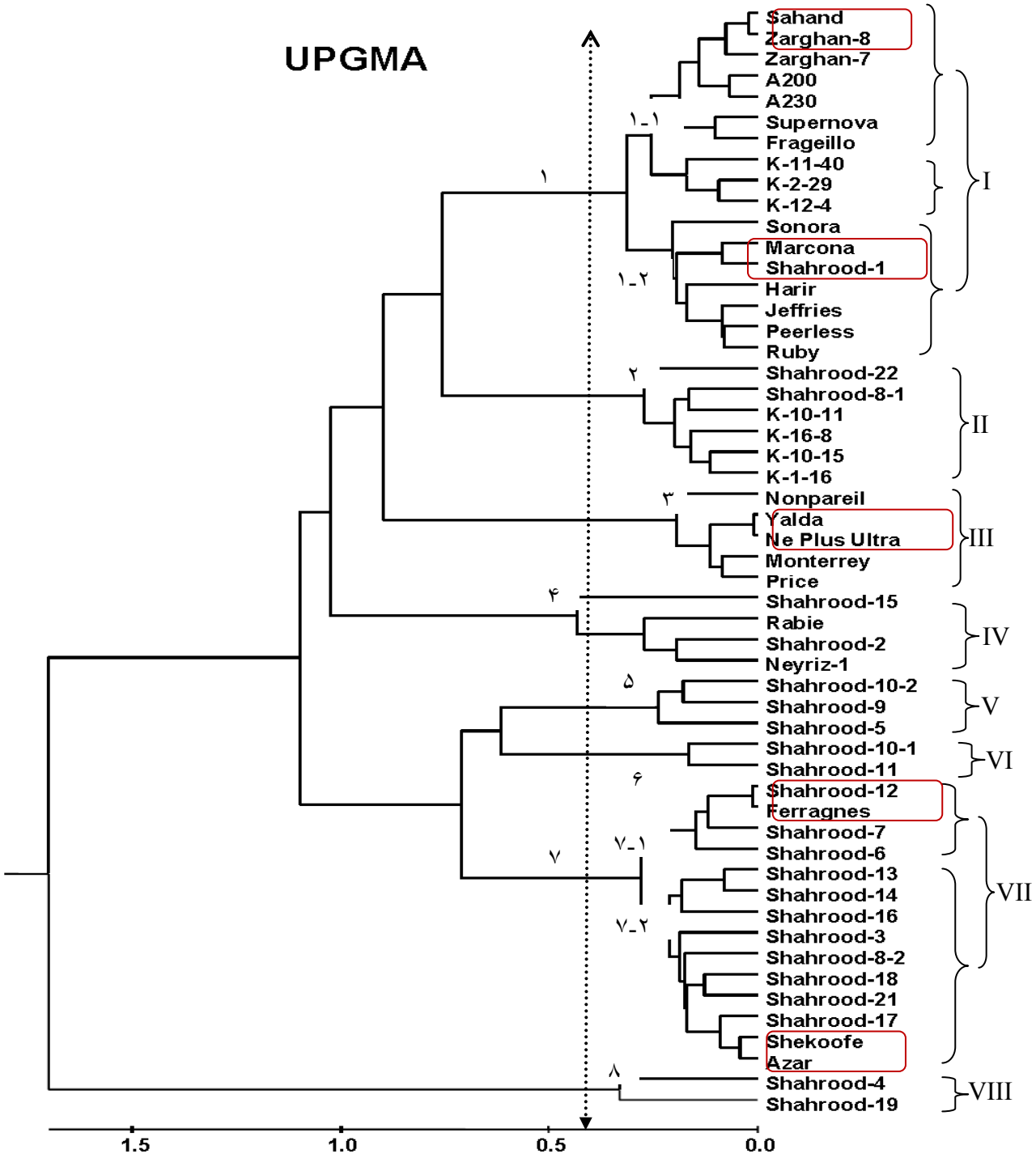
Fig. 1. Dendrogram of grouping of almond cultivars and genotypes assayed based on morphological traits by Ward`s method

همکاران (۲۰۰۷) گزارش شده است. این محققان بیان داشتند که به احتمال زیاد این ارقام دارای منشا ژنتیکی یکسان و با اسامی متفاوت هستند. در همین ارتباط مارتینزگومز و همکاران (۲۰۰۳a) گزارش کردند که نمونه‌های (Accessions) بادام با ضریب تشابه ۰/۹۴ به بالا از نظر ژنتیکی یکسان هستند و در واقع یک رقم و یا کلون‌های یک رقم هستند. بر این اساس با توجه به نتایج مورفولوژیکی (Mousavi *et al.*, 2010) و نتایج مولکولی این تحقیق ارقام یلدا با نوپلوس اولترا و ارقام شاهرود ۱۲ با فرانیس با تشابه ژنتیکی بالا در واقع یکی هستند.

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای اساس صفات مورفولوژیکی

گروه‌بندی ارقام براساس صفات مورفولوژیکی (شکل ۱) و داده‌های نشانگرهای ریزماهواره (شکل ۲) انجام و مورد مقایسه قرار گرفت. گروه بندی ارقام براساس صفات مورفولوژیکی (Mousavi *et al.*, 2012)) به روش وارد (Ward) انجام شد و به طور کلی ارقام به دو گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند (شکل ۱). از عوامل مهم تفکیک کلاسترهای اصلی صفاتی از جمله طول، شکل و وزن خشک میوه، درصدمغز، ضخامت و میزان سختی پوست چوبی و زمان گل‌دهی بودند. با کاهش فاصله روی مقیاس کلاستر از ۲۵ به ۵، ژنوتیپ‌ها و ارقام به شش گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند (شکل ۱). درگروه اول ارقام و ژنوتیپ‌های دارای پوست نازک و کاغذی با طول میوه و مغز بلندتر، وزن مغز بیشتر، میزان نقوش بیشتر در پوست چوبی، دوام پوسته کمتر، شکاف در پوست چوبی آن‌ها بیشتر و دارای رنگ روشن‌تری در پوست و مغز قرار داشتند. ارقام یلدا، نی پلاس التررا و مونتری و همچنین ژنوتیپ‌های کا-۴-۱۰، کا-۱-۱۶، کا-۱۰-۱۱ و کا-۱۶-۸ که خصوصیات مشابه بیشتری در بین صفات اندازه‌گیری شده داشتند، دراین گروه قرار گرفتند. گروه دوم شامل ارقام و ژنوتیپ‌هایی بود که پوست نازک داشتند و شکل، اندازه و وزن متوسط خشک میوه و مغز، درصد مغز بالاتر و دوام دوام پوسته کم و میزان نقوش پوست چوبی بالا با سهولت برداشت و پوست‌کنی پایین داشتند. ارقام شاهرود ۱۸، نان پاریل، سونورا، جفریز و پرایس که خصوصیات مشابه زیادتری در بین صفات اندازه‌گیری شده داشتند، دراین گروه قرار گرفتند. در گروه سوم رقم آمریکایی روبی و ارقام شاهرود ۱۳، شاهرود ۱۵، شاهرود ۱۶ و شاهرود ۱۷ و ارقام ایرانی شکوفه و آذر که پوست نسبتاً نازک و شکل، اندازه و وزن متوسط خشک میوه و مغز، دارای صفت دیرگلی با عادت رشد رویشی نیمه گسترده بودند، قرار گرفتند. درگروه چهارم تعداد ارقام و ژنوتیپ‌های زیادی قرار داشتند و این گروه به دو زیر گروه تقسیم شد. در زیر گروه اول ارقام و ژنوتیپ‌هایی با شکل میوه و مغز پهن‌تر و وزن خشک میوه بالاتر، میزان چین



شکل ۲- دندروگرام مربوط به ارقام و ژنوتیپ‌های بادام براساس داده‌های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره با استفاده از ضریب تشابه دایس و گروه‌بندی به روش UPGMA با نرم‌افزار مگا (نسخه ۴)

Fig. 2. Dendrogram of almond cultivars and genotypes based on data from microsatellite markers using the Dice similarity coefficient and grouping by UPGMA with MEGA software (version 4.0)

و چروک و کرک بیشتر روی مغز، دیرگل تر، میزان سهولت برداشت و پوست‌کنی بیشتر، عادت باردهی اسپور و عادت رشد عمودی تا نیمه گسترده و زمان رسیدن متوسط که دارای رنگ مغز تیره، درصد مغز پایین و اندازه و شکل خشک میوه متوسط بودند. ارقام شاهرود ۱۲، فرانیس، زرقان ۷، شاهرود ۷ ، آ-۲۰۰، آ-۲۳۰ و رقم ایرانی سهند که خصوصیات مشابه بیشتری نشان دادند، در این زیرگروه قرار گرفتند. در زیر گروه دوم ارقام فرانجلو، سوپرنوا و ارقام شاهرود ۶، شاهرود ۱۰ و شاهرود ۱۹ با خصوصیات مشابه بیشتر قرار داشتند. گروه پنجم شامل ارقام و ژنوتیپ‌هایی با بیشترین درصد دوقلویی مغز و ضخامت خشک میوه بالاتر با عادت رشد رویشی گسترده و زمان رسیدن متوسط تا دیررس بودند، قرار گرفتند. ارقام ایرانی حریر، ربیع و نی ریز-۱ در این گروه قرار گرفتند. گروه ششم شامل ارقام دارای شکل خشک میوه گرد و پوست سخت خشک میوه، رنگ پوست چوبی تیره، درصد مغز پایین و وزن خشک میوه بالاتری بودند. ارقام مارکونا و شاهرود ۱با خصوصیات مشابه در کنار هم قرار گرفتند و همچنین ارقام شاهرود ۸- ب، زرقان ۸ و شاهرود ۸ نیز در کنار هم در این گروه قرار گرفتند. در همین ارتباط دجیورجیا و پلی گنانو (De Giorgio. and Polignano , 2001) گزارش کردند که صفات درصد مغز، دوقلویی مغز، ضخامت خشک میوه و مغز از عوامل موثر درگروه‌بندی ۸۸ رقم بادام مورد مطالعه این محققان در ایتالیا بوده است. در همین ارتباط دجیورجیو و همکاران (De Giorgio *et al.*, 2007) گزارش کردند درصد مغز و وزن مغز نقش مهم و تعیین‌کننده‌ای در گروه بندی ارقام بادام داشته و جز صفات تاثیرگذار در تجزیه خوشه‌ای محسوب می‌شوند که همسو با نتایج این تحقیق است. در همین ارتباط موسوی و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند خصوصیات خشک میوه و مغز شامل طول خشک میوه، شکل و وزن خشک میوه و مغز، درصد مغز، میزان ضخامت مغز و سختی پوست چوبی و زمان رسیدن از جمله صفات مهم در تفکیک ارقام و ژنوتیپ‌ها از یک‌دیگر است.

تجزیه خوشه‌ای براساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره

نتایج دندروگرام گروه‌بندی حاصل از داده‌های نشانگرهای ریزماهواره (شکل ۲) بر اساس ضریب تشابه دایس با استفاده از آنالیز خوشه‌ای (تجزیه خوشه) به روش UPGMA با نرم افزار مگا نسخه ۴ (MEGA4) نشان داد که ارقام و ژنوتیپ‌های بادام در فاصله ۰/۵ به هشت گروه تقسیم شدند (شکل ۲). گروه اول دارای دو زیر گروه بود که در زیر گروه اول، ده رقم قرار گرفت. رقم ایرانی سهند با شباهت بسیار بالایی در کنار رقم زرقان ۸ با منشا ناشناخته قرار گرفت. همچنین در این زیر گروه ارقام آ-۲۰۰

و آ-۲۳۰ از اسپانیا و ارقام سوپرنوا و فرانجیلو از ایتالیا در در کنار ارقام سهند، زرقان-۷، زرقان-۸ و ژنوتیپ‌های کا-۲-۲۹، کا-۱۱-۴۰ و کا-۱۲-۴ که از دانهال حاصل از گرده‌افشانی آزاد بین ارقام محلی و ارقام شاهرودی حاصل شده‌اند قرار گرفتند. در زیر گروه دوم متعلق به این گروه، تعداد هفت رقم قرار گرفت. رقم ایرانی حریر در کنار ارقام آمریکایی جفریز، پیرلس و سونورا قرار گرفتند. در این گروه رقم اسپانیایی مارکونا با شباهت نسبتاً بالایی در کنار رقم شاهرود ۱ با منشا ناشناخته قرار گرفت.

گروه دوم شامل شش رقم و ژنوتیپ بود. در این گروه ارقام شاهرود ۲۲و شاهرود ۸-۱ در کنار ژنوتیپ‌های انتخابی ایرانی کا-۱۰-۱۱، کا-۱۶-۸، کا-۱۰-۱۵ و کا-۱-۱۶ بودند که حاصل گرده‌افشانی آزاد بین ارقام محلی و ارقام شاهرودی هستند. در گروه سوم ارقام یلدا از ایران در کنار ارقام آمریکایی نوپلوس اولترا، مونتری، پرایس و نان پاریل قرار گرفتند و رقم یلدا از ایران شباهت بسیار بالایی با رقم آمریکایی نوپلوس اولترا نشان داد. در گروه سوم رقم ایرانی ربیع و ژنوتیپ ایرانی نی ریز-۱ در کنار ارقام شاهرود ۲ و شاهرود ۱۵ با منشا ناشناخته قرار گرفتند. در گروه پنجم ارقام شاهرود ۱۰-۲، شاهرود ۹ و شاهرود ۵ قرار داشتند. که همگی آن‌ها دارای منشا آن ناشناخته هستند. گروه ششم شامل ارقام شاهرود ۱۰-۲ و شاهرود ۱۱ بود.

گروه هفتم دارای دو زیر گروه اصلی است. در این گروه ۱۴ رقم قرار گرفت که در زیر گروه اول (زیرگروه ۱-۷) ارقام شاهرود ۶، ۷ و ۱۲ و رقم فرانسوی فرانیس قرار داشتند. رقم شاهرود ۱۲ با منشا ناشناخته شباهت بسیار بالایی با رقم فرانسوی فرانیس نشان داد. در زیر گروه دوم این گروه (زیر گروه ۲-۷)، ارقام شکوفه و آذر از ایران و ارقام شاهرود ۱۳، شاهرود ۱۴، شاهرود ۱۶، شاهرود ۳، شاهرود ۸-۲، شاهرود ۱۸، شاهرود ۲۱ و شاهرود ۱۷ قرار داشتند. در این زیر گروه ارقام ایرانی آذر و شکوفه با رقم شاهرود ۱۷ شباهت بیشتری نشان دادند. بر اساس گزارش‌ها ارقام ایرانی آذر و شکوفه احتمالاً به ترتیب از تلاقی آی × کریسومورتو و آی × نان پاریل به دست آمده‌اند (Chaichi *et al*., 2003).

نتایج گروه‌بندی نشان داد که این دو رقم ۰/۷۴ شباهت دارند (شکل ۲) که وجود یک والد مشترک بین این دو رقم را تایید می‌کند. با توجه به شباهت ارقام ایرانی آذر و شکوفه با رقم شاهرود ۱۷ و از طرفی وجود والد مشترک رقم آی با منشا فرانسوی، می‌توان چنین استنباط کرد که رقم شاهرود ۱۷ با منشا ناشناخته در واقع همان رقم آی با منشا فرانسوی باشد.

بر اساس نتایج تجزیه خوشه حاصل از داده‌های نشانگرهای ریزماهواره (شکل ۲) در گروه‌های اول، دوم و سوم به طور عمده ارقام آمریکایی، اروپایی (اسپانیا، ایتالیا و فرانسه) و یا ارقام شاهرودی که دارای منشا آمریکایی و اروپایی هستند قرار گرفتند. رقم حریر نیز در

حدود ۰/۴۸ با ارقام آمریکایی جفریز، پیرلس و روبی شباهت نشان داد و زیر گروه دوم (زیر گروه ۱-۲) از گروه اول قرار گرفتند. با توجه به این‌که ایران یکی از مراکز تنوع و تکامل بادام است، این موضوع می‌تواند بیانگر این باشد که ارقام آمریکایی در اصل منشا تکاملی از ارقام ایرانی داشته‌اند. ارقام ایرانی ربیع و نی‌ریز ۱ از سایر ارقام با منشا آمریکا و اروپا (اسپانیا، ایتالیا و فرانسه) جدا قرار گرفتند که بیانگر این است که دارای منشا ژنتیکی متفاوت و تشابه ژنتیکی پایینی با آن‌ها هستند. بر اساس گزارش‌ها رقم ایرانی آذر از تلاقی رقم آی (منشا فرانسوی) با رقم کریسومورتو (منشا ایتالیایی) و رقم ایرانی شکوفه از تلاقی رقم آی (منشا فرانسوی) با رقم نان پاریل (منشا آمریکایی) به دست آمده‌اند (Chaichi *et al*., 2003). نتایج گروه‌بندی نشان داد که این دو رقم شباهت نسبتاً بالایی دارند (شکل ۲) که وجود یک والد مشترک بین این دو رقم را تایید می‌کند. در همین رابطه رقم فرانیس نیز حاصل ترکیب رقم آی×کریستومورتو است، اما از نظر ژنتیکی با رقم آذر متفاوت است و شباهت زیادی ندارند که با نتایج شیران و همکاران (۲۰۰۷) که گزارش کردند تشابه پایینی بین رقم فرانیس با ارقام آذر (۰/۶۵) و شکوفه (۰/۶۷) وجود دارد مطابقت دارد.

با نگاهی اجمالی به گروه‌بندی‌های حاصل از نتایج داده‌های نشانگرهای ریزماهواره (شکل ۲)، می‌توان مشاهده کرد که خوشه‌های متعددی شامل ارقام اروپائی، آمریکایی و ایرانی و یا ترکیبی از آن‌ها ایجاد شده است که این امر مبین ارتباط نزدیک بین کلیه ارقام مورد مطالعه دارد، زیرا کلیه ارقام بادام مربوط به یک گونه *P. dulcis* هستند. البته با توجه به بالا بودن میزان تنوع ژنتیکی، تفکیک این ارقام تا حدودی میسر است. نتایج این تحقیق نشان داد ارقام بادام ایرانی و خارجی بر اساس منشاء و روابط ژنوتیپی با یک‌دیگر مرتبط هستند. این نتایج می‌تواند در تجزیه و تحلیل ارقام ایرانی و نیز بررسی و شناخت منشا ارقام ناشناخته‌ای مانند ارقام شاهرودی و یا ارقام دیگر نظیر زرقان ۷ و زرقان ۸ مفید باشد. با بررسی دندروگرام به دست آمده (شکل ۲) در ارقام بادام خوشه‌های کاملاً مجزایی مشاهده نمی‌شود، که این امر می‌تواند به دلیل وجود تنوع ژنتیکی بالا و جریان ژنی بین ارقام در اثر دگرگرده‌افشانی باشد زیرا بر اساس فرضیه تبادل یک فرد در هر نسل برای ممانعت از تمایز شدید بین دو جمعیت کافی است، گرچه فراوانی آللی ممکن است هنوز متفاوت باشد. دندروگرام نشان دهنده ارتباط بین ارقام مختلف بسته به منطقه گسترش آن‌ها و نیز اطلاعات شجره‌ای است و گروه‌بندی نسبتاً مشخصی بر اساس منشا جغرافیایی هر دسته از ارقام مشاهده می‌شود. پیش از این نیز به کارایی نشانگرهای ریزماهواره در تفکیک جغرافیایی ارقام اشاره شده و گزارش شده است که ارقام با منشا جغرافیایی مختلف در خوشه‌های متفاوتی قرار می‌گیرند

Xie *et al*., 2006؛ Shiran *et al*., 2007؛ Martinez-Gomez *et al*., 2003a). به عنوان مثال می‌توان به قرار گرفتن ارقام یلدا، نوپلوس اولترا، مونتری، پرایس، نان پاریل با منشا آمریکایی در یک گروه (گروه سوم) اشاره کرد که این امر می‌تواند نشان‌دهنده شباهت ژنتیکی بالای بین آن‌ها باشد.

نتایج گروه‌بندی ارقام داخلی و خارجی بادام موجود در ایران با استفاده از صفات مورفولوژیکی براساس توصیف‌نامه بادام (شکل ۱) نتایج نشان داد که برخی از ارقام شاهرودی با برخی از ارقام خارجی شباهت و قرابت نزدیکی دارند (Mousavi *et al*., 2010). نتایج حاصل از بررسی میزان تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی ارقام داخلی و خارجی با نشانگر های مولکولی ریزماهواره (شکل ۲) نیز نشان داد که برخی از ارقام از نظر ژنتیکی یکسان ولی نام‌گذاری متفاوتی دارند. بر اساس نتایج گروه‌بندی مورفولوژیکی و مولکولی، رقم یلدا با رقم آمریکایی نوپلوس اولترا، بیشترین شباهت (۰/۹۶۳) را داشت و در واقع رقم یلدا همان رقم نوپلوس اولترا (منشا آمریکا) است. رقم شاهرود ۱۲ و رقم فرانیس (منشا فرانسه) نیز با شباهت ژنتیکی بالا (۰/۹۴) و خصوصیات مورفولوژیکی مشابه به احتمال زیاد یک رقم هستند. وجود تشابه بالا بین ارقام یلدا با نوپلوس اولترا، فرانیس با شاهرود ۱۲ و رقم زرقان ۸ (یک رقم از شیراز) با رقم سهند (از تبریز) بیانگر این است که این ارقام به احتمال زیاد ژنوتیپ‌های یکسان و یا کلون هستند (شکل‌های ۱و ۲). وجود مشابهت ژنتیکی بالا بین برخی از ارقام بادام از جمله سفید با منقا، شاهرود ۱۸ با نان پاریل و شاهرود ۱۶ با تاردی نان پاریل توسط شیران و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شده است. این محققان بیان داشتند که به احتمال زیاد این ارقام دارای منشا ژنتیکی یکسان و با اسامی متفاوت هستند. در همین ارتباط نیز مارتینز و همکاران (۲۰۰۳a) گزارش کردند که نمونه‌های بادام با ضریب تشابه ۰/۹۴ به بالا از نظر ژنتیکی یکسان هستند و در واقع یک رقم و یا کلون‌های یک رقم هستند. بر اساس نتایج ارقام یلدا و نوپلوس اولترا، ارقام شاهرود ۱۲ و فرانیس، مارکونا و شاهرود ۱ و ارقام سهند و زرقان ۸ با تشابه ژنتیکی (مورفولوژی و مولکولی) بالا در واقع یکی هستند. این نتایج بیانگر این است که بایستی یک بازنگری کلی در مدیریت کلکسیون‌های بادام انجام شود، لذا شناسایی ارقام با ماهیت ژنتیکی یکسان ولی اسامی متفاوت و بالعکس، ارقامی که دارای ژنتیک متفاوت ولی اسامی مشابه هستند، به منظور مدیریت کلکسیون‌ها و انتخاب والدین در برنامه‌های به‌نژادی ضروری به نظر می‌رسد.

نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیقات مشابه نشان داد که نتایج گروه‌بندی بر اساس نشانگرهای مولکولی ریزماهواره و سایر نشانگرهای DNA (Shiran *et al*., 2007؛

Zeinolabedini *et al.*, 2012؛ Fathi *et al.*, 2088؛ Pop *et al.*, 2013) ممکن است به دلیل تاثیرپذیری صفات مورفولوژیکی از عوامل محیطی با نتایج گروه‌بندی ارقام بر اساس صفات مورفولوژیکی کاملاً منطبق نباشند و تفاوت داشته باشد بنابراین برای مدیریت بهتر کلکسیون‌ها و انتخاب صحیح ارقام به عنوان والدین در برنامه‌های به‌نژادی، توجه به تفاوت‌های فنوتیپی و ژنتیکی یک اصل اساسی محسوب می‌شود. استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره روش مناسبی برای شناسایی ارقام بادام بوده و توصیه می‌شود به منظور افزایش کارایی برنامه‌های به‌نژادی جهت بررسی دقیق‌تر تنوع ژنتیکی و تعیین روابط خویشاوندی مورد استفاده قرار گیرند.

References

Aranzana, M. J., Garcia-Mas, J., Carbo, J., and Arus, P. 2002. Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. Plant Breeding 121: 87-92.

Aranzana, M. J., Pineda, A. Cosson, P., Dirlewanger, E., Ascasibar, J., Cipriani, G., Ryder, C. D., Testolin, R., Abbott, A., King, G. J., Iezzoni, A. F., and Arus, P. 2003. A set of simple-sequence repeat (SSR) markers covering the Prunus genome. Theoretical and Applied Genetics 106: 819-825.

Bouhadida, M., Casas, A. M., Gonzalo, M. J., Arus, P., Moreno, M. A., and Gogorcena, Y. 2009. Molecular characterization and genetic diversity of Prunus rootstocks. Scientia Horticulturae 120: 237-245.

Chaichi, S., Hasanzadeh, M., Jafarloo, M., and Baibordi, A. 2003. Almond production manual (planting and harvesting). Publication of Agricultural Education, Tehran, Iran. 172 pp. (in Persian).

Cipriani, G., Lot, G., Huang, H. G., Marrazzo, M. T., Peterlunger, E., and Testolin, R. 1999. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach: isolation, characterization and cross-species amplification in Prunus. Theoretical and Applied Genetics 99: 65-72.

Dangl, G. S., Yang, J., Golino, D. A., and Gradziel, T. 2009. A practical method for almond cultivar identification and parental analysis using simple sequence repeat markers. Euphytica 168: 41-48.

De Giorgio, D., Leo, L., Zacheo, G., and Lamascese, N. 2007. Evaluation of 52 almond (*Prunus amygdalus* Batsch) cultivars from the Apulia region in Southern Italy. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 541-546.

De Giorgio. D., and Polignano, G. B. 2001. Evaluating the biodiversity of almond from a germplasm collection field in southern Italy pp. 305-311. In: Proceedings of International Soil Congeration Organization Meeting. May 24-29, Italy.

Dirlewanger, E., Crosson, A., Tavaud, P., Aranzana, M. J., Poizat, C., Zanetto, A., Arus, P., and Laigret, L. 2002. Development of microsatellite markers in peach and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry. Theoretical and Applied Genetics 105: 127-138.

Distefano, G., Caruso, M., Malfa, S. L., Ferrante, T., Signorec, B. D., Gentile, A., and Sottile, F. 2013. Genetic diversity and relationships among Italian and foreign almond germplasm as revealed by microsatellite markers. Scientia Horticulturae 162: 305-312.

Elhamzaoui, A., Oukabli, A., Charafi, J., and Moumni, M. 2012. Assessment of genetic diversity of Moroccan cultivated almond (*Prunus dulcis* Mill. DA Webb) in its area of extreme diffusion, using nuclear microsatellites. American Journal of Plant Sciences 3: 1294-1303.

Elhamzaoui, H., Ahmed, O., Jamal, C., and Mohieddine, M. 2013. Moroccan almond is a distinct gene pool as revealed by SSR. Scientia Horticulturae 154: 37-44.

Fathi, A., Ghareyazi, B., Haghnazari, A., Ghaffari, M. R., Pirseyedi, S. M., Kadkhodaei, S., Naghavi, M. R., and Mardi, M. 2008. Assessment of the genetic diversity of almond (*Prunus dulcis*) using microsatellite markers and morphological traits. Iranian Journal of Biotechnology 6: 98-106.

Fernandez i Marti, A., Alonso, J. M., Epiau, M. T., Rubio-Cabetas, M. J., and Socias i Company, R. 2009. Genetic diversity in spanish and foreign almond germplasm assessed by molecular characterization with simple sequence repeats. Journal of the American Society for Horticultural Science 134: 535-542.

Gouta, H., Ksia, E., Buhner, T., Moreno, M. A., Zarrouk, M., Mliki, A., and Gogorcena, Y. 2010. Assessment of genetic diversity and relatedness among Tunisian almond germplasm using SSR markers. Hereditas 147: 283-292.

Karimi, R., Ershadi, A., Vahdati, K., and Woeste, K. 2010. Molecular characterization of Persian walnut populations in Iran with microsatellite markers. HortScience 45: 1403-1406.

Kimura, M., and Crow. J. F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics 42: 725-738.

Martinez-Gomez, P., Arulsekar, S., Potter, D., and Gradziel, T. M. 2003a. An extended inter-specific gene pool available to peach and almond breeding as characterized using simple sequence repeat (SSR) markers. Euphytica 131: 313-322.

Martinez-Gomez, P., Arulsekar, S., Potter, D., and Gradziel, T. M. 2003b. Relationships among peach and almond and related species detected by SSR markers. Journal of the American Society for Horticultural Science 128: 667-671.

Martinez-Gomez, P., Sanchez-Perez, R., Rubio, M., Dicenta, F., Gradziel, T. M., and Sozzi, G. O. 2005. Application of recent biotechnologies to Prunus tree crop genetic improvement. Ciencia e Investigation Agraria 32: 55-78.

Mnejja, M., Garcia-Mas, J., Howad, W., Badenes, M. L., and Arus., P. 2005. Development and transportability across Prunus species of 42 polymorphic almond microsatellites. Molecular Ecology Notes 5: 531–535.

Mousavi, A., Fatahi Moghadam, M. R., Zamani, Z., and Imani, A. 2011. Evaluation of quality and quantity characteristics of some almond cultivars and genotypes. Iranian Journal of Horticultural Science 41: 119-131 (in Persian).

Murray, H. C., and Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research 8: 4321-4325.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States America 70: 3321-3323.

Pop, I. F., Vicol, A. C., Botu, M., Raica, P. A., Vahdati, K., and Pamfil, D. 2013. Relationships of walnut cultivars in a germplasm collection: Comparative analysis of phenotypic and molecular data. Scientia Horticulturae 153: 124-135.

Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., and Rafalski, A. 1996. Comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2: 225-238.

Sanchez-Perez, R., Ballester, J., Dicenta, F., Arus, P., and Martinez-Gomez, P. 2006. Comparison of SSR polymorphisms using automated capillary sequencers, and

polyacrylamide and agarose gel electrophoresis: implications for the assessment of genetic diversity and relatedness in almond. Scientia Horticulturae 108: 310-316.

Sanchez-Perez, R., Ruiz, D., Dicenta, F., Egea, J., and Marinez-Gomez, P. 2005. Application of simple sequence repeat (SSR) markers in apricot breeding: molecular characterization, protection, and genetic relationships. Scientia Horticulturae 103: 305-315.

Shannon, C. E., and Weaver, W. 1949. The Mathematical Theory of Communication. University of Illinois Press, Urbana, Illinois, USA.

Shiran, B., Amirbakhtiar, N., Kiani, S., Mohammadi, S. H., 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.

Sosinski, B., Gannavarapu, M., Hager, L. E., Beck, L. E., King, G. J., Ryder, C. D., Rajapakse, S., Baird, W. V., Ballard, R. E., and Abbott, A. G. 2000. Characterization of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* (L) Batsch). Theoretical and Applied Genetics 101: 421-428.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., and Kumar, S. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. Molecular Biology and Evolution 4: 1596-1599.

Testolin, R., Marrazo, T., Cipriani, G., Quarta, R., Verde, I., Dettori, T., Pancaldi, M., and Sansavini, S. 2000. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L.) Batsch and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. Genome 43: 512-520.

Testolin, R., Messina, R., Lain, O., Marrazzo, M. T., Huang, W. G., and Cipriani, G. 2004. Microsatellites isolation in almond from an AC-repeat enriched library. Molecular Ecology Notes 4: 459-461.

Wunsch, A. 2009. Cross-transferable polymorphic SSR loci in Prunus species. Scientia Horticulturae 120: 348-352.

Xie, H., Sui, Y., Chang, F. Q., Xu, Y., and Ma, R. C. 2006. SSR allelic variation in almond. Theoretical and Applied Genetics 112: 366-372.

Xu, Y., Ma, R., Xie, H., Liu, J., and Cao, M. 2004. Development of SSR markers for the phylogenetic analysis of almond trees from China and the Mediterranean region. Genome 47: 1091-1104.

Yeh, F. C., Yang, R. C., and Boyle, T. 1997. POPGENE. CIFOR and University of Alberta, Canada, Version 1.21.

Zeinolabedini, M. 2008. Genetic relationship of some almond cultivars and species relative Prunus using SSR markers. Ph.D. Thesis, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. 135 pp. (in Persian).

Zeinolabedini, M., Khayam-Nekoui, M., Grigorian, V., Gradziel, T. M., and Martinez-Gomez, P. 2010. The origin and dissemination of the cultivated almond asdetermined by nuclear and chloroplast SSR marker analysis. Scientia Horticulturae 125: 593-601.

Zeinolabedini, M., Majourhat, K., Khayam-Nekoui, M., Grigorian, V., Torchi, M., Dicenta, F., and Martinez- Gomez, P. 2007. Molecular characterization of almond cultivars and related wild species using nuclear and chloroplast DNA markers. Journal of Food, Agriculture and Environment 5: 242-247.

Zeinolabedini, M., Sohrabi, S., Nikoumanesh, K., Imani, A., and Mardi, M. 2012. Phenotypic and molecular variability and genetic structure of Iranian almond cultivars. Plant Systematics and Evolution 298: 1917-1929.