

بررسی روابط ژنتیکی بین ارقام و ژنوتیپ های امید بخش بادام با

استفاده از نشانگر مولکولی RAPD

موسی رسولی^{۱*}، محمدرضا فتاحی مقدم^۲، ذبیح اله زمانی^۳، علی ایمانی^۴ و علی عبادی^۵

۱- استادیار گروه مهندسی فضای سبز دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست دانشگاه ملایر و دانشجوی سابق دکتری دانشگاه تهران

۲، ۴ و ۵- به ترتیب دانشیاران و استاد گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳- استادیار مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m_rasouli83@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۹- تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۸)

چکیده

در این تحقیق جهت مطالعه روابط ژنتیکی ۳۹ رقم و ژنوتیپ بادام داخلی و خارجی از نشانگر مولکولی RAPD استفاده گردید. DNA ژنومی از بافت های برگي جوان استخراج گردید و واکنش های PCR با استفاده از ۲۰ آغازگر ده نوکلئوتیدی انتخابی که قابلیت تکثیر و چندشکلی بالا داشتند، انجام شد. آغازگرهای انتخاب شده در مجموع ۲۹۷ باند تکثیر کردند که از بین آنها ۲۸۸ باند که دارای وضوح و چند شکلی مناسب بودند نمره دهی و تجزیه آماری شدند. در بین آغازگرهای استفاده شده، آغازگر BD-04 بیشترین تعداد باند چند شکل (۲۳ باند) و همچنین آغازگر BD-10 بالاترین میزان قدرت تفکیک (۱۳/۶۴) را نشان دادند و متوسط قدرت تفکیک آغازگرهای مورد استفاده ۷/۰۵ بود. بر اساس ماتریس تشابه، بیشترین تشابه (۰/۷۸) بین ژنوتیپ های (یزد ۴۴۴) و (یزد ۶۰) و کمترین تشابه (۰/۲۵) بین ژنوتیپ های '۱۶-۸' و 'هیبرید هلو و بادام، مشاهده گردید و در مجموع هیبرید هلو و بادام کمترین تشابه را با سایر ژنوتیپ ها نشان داد. در تجزیه خوشه ای، ارقام و ژنوتیپ های مورد بررسی در فاصله تشابه ۰/۴۴ به ۸ گروه اصلی تقسیم شدند که متناسب با منشاء جغرافیایی و برخی خصوصیات مورفولوژیکی آنها بود. تجزیه کلاستر به طور موثری تفاوت ها بین ارقام و ژنوتیپ ها را تفکیک و شباهت های ژنتیکی آنها را نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده ارقام و ژنوتیپ های (دیررس ساوجبلاغ)، (D-124)، (پاکوتاه شماره ۲ طالقان)، (شماره ۸-۱۶)، (شماره ۱۰-۱۱)، (ارومیه ۶۸) و (برگ درشت همدان) از نظر برخی صفات مهم مورفولوژیکی مثل عادت دیرگلدهی، خشک میوه و مغز بهتر از سایر ارقام و ژنوتیپ ها بودند. نتایج ثابت کرد که بین ارقام و ژنوتیپ های مطالعه شده تنوع خوبی وجود داشت که جهت برنامه های اصلاحی بادام می توان از آنها استفاده نمود.

مقدمه

بادام با نام علمی *Prunus dulcis* یکی از مهم ترین محصولات خشکبار در جهان است که دارای ارزش اقتصادی بالایی می باشد (۱۳). بادام از مرکز و جنوب آسیا منشأ گرفته و به تدریج تحت شرایط اقلیمی سرد و خشک تکامل یافته است. گونه های مرتبط به جنس پرونوس به طور وحشی در شرق چین در مناطق کوهستانی و مناطق بیابانی غرب چین، ترکمنستان، افغانستان و ایران یافت می شوند (۱۴).

واژه های کلیدی

بادام،
تنوع ژنتیکی،
ضریب تشابه جاکارد،
نشانگر RAPD.

مشاهده شد. نتایج نشان داد که در این تحقیق میزان تنوع مشاهده شده با نشانگر RAPD بالاتر بود. مطالعات مشابهی روی ارقام خارجی و گونه‌های وحشی مناطق آسیایی و کشورهای مدیترانه-ای، استرالیا و شمال آفریقا با استفاده از نشانگرهایی مثل آیزوزایم، AFLP، SSR، RAPD، RFLP و ISSR انجام شده است (۲، ۵، ۱۰، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۴، ۲۶ و ۲۸). این مطالعات نشان داد که بادام دارای تنوع بالا بوده و به دلیل خود ناسازگاری دارای هتروزیگوتی شدید می‌باشد. از آنجایی که ارقام ایرانی بادام تاکنون کمتر شناخته شده و یا مورد بررسی قرار گرفته اند، لذا مطالعه، شناسایی و تعیین روابط ژنتیکی بین ارقام ایرانی با استفاده از روشهای مولکولی می‌تواند مناسب و مفید باشد. هدف این تحقیق تعیین تنوع ژنتیکی و رابطه بین ارقام و ژنوتیپ‌های ایرانی و خارجی با استفاده از نشانگر مبتنی بر پی سی آر RAPD می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق سی و نه رقم و ژنوتیپ متفاوت و متنوع از ارقام و ژنوتیپ‌های ایرانی بادام که در کلکسیون تحقیقاتی کمال آباد کرج وابسته به موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر وزارت جهاد کشاورزی جمع‌آوری شده‌اند بررسی شدند. اسامی ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در جدول شماره ۱ و نحوه اندازه گیری برخی از ویژگی‌های مهم مورفولوژیکی آنها که در این تحقیق صورت گرفته، در جدول شماره ۲ ذکر شده است.

بر اساس تجزیه DNA کلروپلاستی هلو و بادام، نزدیکی و ارتباط زیادی بین گونه‌های کشت شده جنس پرونوس و موارد تقسیم-بندی شده در زیر جنس آمیگدالوس آشکار شد (Badenes et al. 1995). بطور سنتی، شناسایی و تشریح خصوصیات ارقام بادام براساس صفات مورفولوژیکی استوار بوده است. با این حال این صفات معمولاً همیشه برای بررسی و مطالعه در دسترس نمی‌باشند و تحت تاثیر محیط می‌باشند. برخی از این صفات تنها در مرحله بلوغ قابل مشاهده بوده و زمان طولانی برای مطالعه و بررسی آنها مورد نیاز است (Shiran et al. 2007). در سال‌های اخیر زیست شناسی مولکولی، ابزارهای مناسبی را برای تجزیه و تحلیل‌های جامع‌تر در مورد شناسایی موجودات زنده فراهم کرده است. در این میان نشانگرهای ملکولی و اختصاصاً نشانگرهای DNA یکی از نشانگرهایی بوده است که برای مطالعات ملکولی و ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفته اند. استفاده از روش‌های مبتنی بر DNA از جمله استفاده از تکنیک RAPD جهت بررسی و افزایش کارایی مدیریت ژرم پلاس، بدلیل هزینه نسبتاً بالای کشت و مدیریت و نیاز به فضای زیاد جهت تکثیر رویشی درختان میوه مفید باشد. ارزش و اهمیت آنالیز تنوع با استفاده از RAPD در مدیریت ژرم پلاس گیاهان توسط محققین مختلف نیز گزارش شده است (Mohammadi et al. 2003; Woolley et al. 2000). Baranek et al. (2006) از مارکرهای RAPD و SSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی بین ۱۵ جنس *Prunus* استفاده کردند. تعداد قطعات تولید شده برای RAPD به‌طور ویژه بیشتر از SSR بود اما در گروه‌های نزدیک به هم پلی مورفیسم بیشتری در SSR

جدول ۱- اسامی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام مورد بررسی.

شماره رقم	رقم	منشاء	شماره رقم	نام رقم	منشاء	شماره رقم	نام رقم	منشاء
۱	فریتز	امریکا	۱۴	9-2	ایران	۲۷	زرقان ۲۶	ایران
۲	11-10	ایران	۱۵	9-32	ایران	۲۸	پاکوتاه طالقان شماره ۲	ایران
۳	ژینکو	ایتالیا	۱۶	2-29	ایران	۲۹	زرقان ۳۶	ایران
۴	5-6	ایران	۱۷	d-99	ایران	۳۰	۴-۱۰	ایران
۵	D-124	ایران	۱۸	2-7	ایران	۳۱	۱۶-۸	ایران
۶	4-6	ایران	۱۹	16-3	ایران	۳۲	دیر رس ساوجبلاغ	ایران
۷	3-17	ایران	۲۰	میرینچ تهران	ایران	۳۳	برگ درشت همدان	ایران
۸	کارمل	امریکا	۲۱	پاکوتاه طالقان ۱	ایران	۳۴	شال قزوین	ایران
۹	9-7	ایران	۲۲	مشهد ۱۰	ایران	۳۵	پاکوتاه رزن	ایران
۱۰	بوتی	امریکا	۲۳	مشهد ۶	ایران	۳۶	برگ سیاه قزوین	ایران
۱۱	نان پاریل	آمریکا	۲۴	ارومیه ۹۸	ایران	۳۷	هیبرید هلو و بادام	ایران
۱۲	16-25	ایران	۲۵	بزد ۴۴۴	ایران	۳۸	کرمان ۱۶	ایران
۱۳	2-27	ایران	۲۶	بزد ۶۰	ایران	۳۹	کرمان ۵	ایران

جدول ۲- لیست صفات مورد ارزیابی و نحوه اندازه گیری آنها بر اساس توصیف نامه بادام.

ردیف	صفت	واحد	روش اندازه گیری
۱	زمان گلدهی	کد	۱= بیش از حد زود، ۲= خیلی زود، ۳= زود، ۴= زود تا متوسط، ۵= متوسط، ۶= متوسط تا دیر، ۷= دیر، ۸= خیلی دیر، ۹= بیش از حد دیر
۲	قدرت رشدی درخت	کد	۳= ضعیف، ۵= متوسط، ۷= قوی
۳	تراکم شاخه و برگ	کد	۳= تنک ۵= متوسط ۷= متراکم
۴	سطح برگ	میلیمتر	دستگاه اندازه گیری سطح برگ
۵	نسبت طول به عرض پهنک برگ	نسبت	محاسبه نسبت طول پهنک برگ به عرض پهنک برگ
۶	وزن خشک میوه	گرم	ترازوی دیجیتال
۷	طول خشک میوه	میلی متر	کولیس
۸	عرض خشک میوه	میلی متر	کولیس
۹	وزن مغز	گرم	ترازوی دیجیتال
۱۰	رنگ مغز	کد	۱= خیلی روشن، ۳= روشن، ۵= متوسط، ۷= تیره، ۹= خیلی تیره
۱۱	درصد دوقلویی مغز	درصد	تعداد مغز های دوقلو در نمونه صدتایی
۱۲	درصد مغز	درصد	وزن صد عدد مغز به صد عدد خشک میوه
۱۳	سختی یا نرمی پوست چوبی	کد	۱= خیلی سخت، ۳= سخت، ۵= نیمه سخت، ۷= نازک، ۹= کاغذی
۱۴	زمان رسیدن میوه	کد	۱= بیش از حد زود، ۳= زود، ۵= متوسط، ۷= دیر، ۹= بیش از حد دیر

استخراج DNA

استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های برگ‌گی جوان توسعه یافته (از بین ۲۰ برگ برای هر ژنوتیپ) با استفاده از روش موری و تامسون (۱۹۸۰) صورت گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA بدست آمده با استفاده از روش الکتروفورز DNA در ژل آگاروز تهیه شده به غلظت ۰/۸ درصد در بافر TBE^۱ و نیز روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Perkin-Elmer، مدل EZ-201 صورت گرفت و غلظت یکسان از آن‌ها (۵ نانوگرم در میکرولیتر) تهیه شد. انجام آزمایش RAPD برای انجام آزمایش از کیت PCR محصول شرکت Ampliqon (دانمارک) و شرکت سیناژن ایران استفاده شد. کلیه وسایل و لوله‌های PCR به کار برده شده قبل از استفاده استریل شدند. برای هر مخلوط واکنش، مقدار دو میکرولیتر از DNA تهیه شده با غلظت ۵ ng.μl^{-۱} به ۱۳ میکرولیتر از مخلوط واکنش PCR شامل ۷/۵ μl کیت (dNTPs، PCR buffer، Taq DNA Polymerase، MgCl₂)، ۱ μl یک آغازگر با غلظت ۱۰ μM و آب مقطر ۴/۵ μl دوبار تقطیر استریل اضافه گردید که در نهایت حجم محلول واکنش PCR به ۱۵ μl رسید. سپس واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر Bio-Rad مدل i-Cycler انجام شد. در این تحقیق ۱۰۰ آغازگر ده نوکلئوتیدی سری تیپ مول بیول^۲ و اپرون^۳ مورد

بررسی قرار گرفت که از بین آن‌ها ۲۰ آغازگر انتخاب و استفاده گردید (جدول ۳). برای انجام واکنش PCR سیکل‌های حرارتی به شرح جدول ۴ با استفاده از روش کاهش دمایی^۴ صورت گرفت (۱۴ و ۲۲). پس از انجام واکنش PCR، الکتروفورز نمونه‌ها با استفاده از ژل آگاروز ۱/۱ تا ۱/۶ درصد (بسته به تعداد مکان‌های مورد هدف هر آغازگر) به مدت ۲/۵ ساعت با جریان ۷۵ ولت صورت گرفت. پس از این مرحله ژل رنگ‌آمیزی شد و قطعات تکثیر یافته DNA تحت نور UV توسط دستگاه ژل داک مشاهده شده و عکس‌برداری از ژل صورت گرفت (۲۲).

تجزیه داده‌ها

پس از انجام آزمایش RAPD، برای بررسی چندشکلی بین ژنوتیپ‌ها، وجود یا عدم وجود یک باند خاص با اعداد یک و صفر مشخص گردید. بعد از تشکیل ماتریس رتبه‌های یک و صفر (۳۹×۲۸۸)، ماتریس تشابه ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم افزار NTSYS (Ver. 2.02) و ضرایب تشابه جاکارد محاسبه گردید. در نهایت تجزیه خوشه‌ای بر اساس ماتریس فاصله انجام شده و دندروگرام به روش UPGMA^۵ بدست آمد. برای محاسبه قدرت تفکیک هر آغازگر از فرمول زیر (۲۲) استفاده شد:

$$R_p = \sum I_b \quad \text{که در آن} \quad I_b = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

می‌باشد و p فراوانی حضور باند در ۳۹ رقم و ژنوتیپ مورد مطالعه است.

³ Operon Technology⁴ Touch Down⁵ Unweighted Paired Grouping Using Arithmetic Average¹ Tris Boric Acid EDTA² Tibmolbiol

جدول ۳- اسامی و توالی آغازگرهای منتخب مورد استفاده در مطالعه RAPD

ارقام و ژنوتیپ‌های بادام مورد بررسی.

ردیف	نام آغازگر	توالی آغازگر
۱	BA-04	5'-TCCTAGGCTC-3'
۲	BA-05	5'-TGCGTTCCAC-3'
۳	BA-17	5'-TGTACCCCTG-3'
۴	BA-20	5'-GAGCGCTACC-3'
۵	BB-05	5'-GGGCCGAACA-3'
۶	BB-08	5'-TCGTCTGAAGG-3'
۷	BB-12	5'-TTCGGCCGAC-3'
۸	BB-16	5'-TCGGCACCGT-3'
۹	BB-17	5'-ACACCGTGCC-3'
۱۰	BD-04	5'-TCGGGTGTTG-3'
۱۱	BD-06	5'-AAGCTGGCGT-3'
۱۲	BD-09	5'-CCACGGTCAG-3'
۱۳	BD-10	5'-GACGCTATGG-3'
۱۴	BE-09	5'-CCCGCTTTCC-3'
۱۵	BE-18	5'-CCAAGCCGTC-3'
۱۶	BE-20	5'-CAAAGGCGTG-3'
۱۷	OPB-17	5'-AGGGAACGAG-3'
۱۸	OPC-07	5'-GTCCCACGCA-3'
۱۹	OPC-12	5'-TGTCATCCCC-3'
۲۰	OPG-13	5'-CTCTCCGCCA-3'

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از اندازه‌گیری برخی از صفات مهم مورفولوژیکی ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در جدول شماره ۵ ذکر شده است. بر اساس نتایج بدست آمده ارقام و ژنوتیپ‌های (دیررس ساوجبلاغ)، (D-124)، (پاکوتاه شماره ۲ طالقان)، (شماره ۸-۱۶)، (شماره ۱۰-۱۱)، (ارومیه ۶۸) و (برگ درشت

همدان) از نظر برخی صفات مهم مورفولوژیکی مثل عادت دیرگلدهی، خشک میوه و مغز بهتر از سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها بودند.

قطعات تکثیر شده و میزان چند شکلی

برای بررسی میزان چند شکلی DNA در بین ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بادام مورد بررسی در این تحقیق، باندهای مربوط به ۲۰ آغازگر که دارای چند شکلی مناسب بودند در محاسبات منظور شدند. آغازگرهای مذکور در مجموع ۲۹۷ قطعه را تکثیر نمودند که از بین آنها ۲۸۸ قطعه که دارای چند شکلی و وضوح مناسب بودند در محاسبات منظور شدند (جدول ۶). تعداد باند چند شکل تکثیر شده از ۷ تا ۲۳ باند در بین ۲۰ آغازگر متفاوت بود. کمترین تعداد باند چند شکل تکثیر شده (۷ باند) با ۸۷/۵ درصد چند شکلی مربوط به آغازگر BD-06 و بیشترین تعداد باند چند شکل (۲۳ باند) با ۱۰۰ درصد چند شکلی مربوط به آغازگر BD-04 بود. تعداد باند های RAPD آشکار شده بوسیله هر آغازگر وابسته به توالی آغازگر و میزان تنوع در بین ارقام و ژنوتیپ‌ها بود. با این حال تعداد باندها در بین ارقام و ژنوتیپ‌ها مختلف، دارای تنوع بود. اکثر آغازگرها (۱۲ عدد از ۲۰ عدد) صد درصد چندشکلی نشان دادند (جدول ۶). همچنین آغازگرهای BA-20، BB-16، BE-20، OPB-17 و OPC-07 دارای درصد چند شکلی بیش از ۹۰ درصد بودند. میانگین درصد چند شکلی آغازگرهای مورد استفاده ۹۶/۶۱ درصد بود.

جدول ۴- چرخه دمایی تغییر یافته برای سه مرحله (باز شدن، اتصال و بسط) در هر یک از مراحل

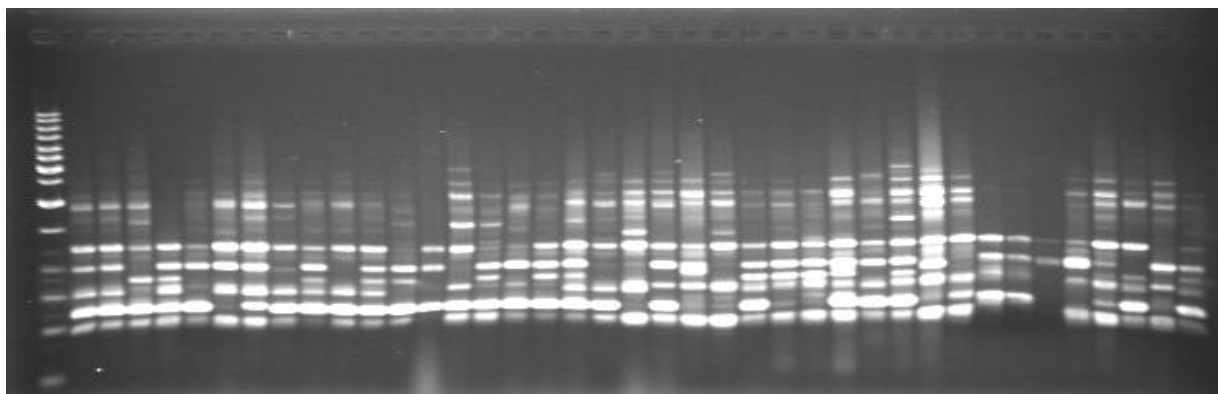
مرحله	مرحله انجام شده	تعداد سیکل (تکرار)	زمان (دقیقه یا ثانیه)	درجه حرارت
۱	شروع باز شدن رشته DNA	۱	۳"	۹۲ °C
	تک رشته ای شدن DNA	-	۱"	۹۲ °C
۲	اتصال آغازگر به DNA	۵	۱"	۴۰ °C با کاهش ۰/۵ درجه ای در هر سیکل تا ۳۷/۵ °C
	بسط آغازگر	-	۱"	۷۲ °C
	تک رشته ای شدن DNA	-	۳۰"	۹۲ °C
۳	اتصال آغازگر به DNA	۳۰	۴۵"	۳۷/۵ °C
	بسط آغازگر	-	۱'۲۵"	۷۲ °C
۳	تکمیل بسط	۱	۷"	۷۲ °C

جدول ۵- برخی ویژگی‌های مهم ارقام و ژنوتیپ‌های بادام مورد بررسی در این آزمایش.

ردیف	رقم	منشا	زمان گلدهی	قدرت رشد	تراکم شاخه و برگ	سطح برگ	نسبت طول به عرض پهنک	وزن خشک میوه	طول خشک میوه	عرض خشک میوه	وزن مغز	رنگ مغز	درصد دوقلوبی	درصد مغز	سختی پوست چوبی	زمان رسیدن
		کشور	کد	کد	کد	میلیمتر مربع	نسبت	گرم	سانتی-متر	سانتی-متر	گرم	کد	درصد	درصد	کد	کد
۱	فرینز	امریکا	۵	۲	۳	۷۶۲/۲۴	۲/۶۴	۳/۵۳	۳/۴۱	۲/۲۲	۱/۲۳	۳	۰	۴۴/۲۷	۵	۵
۲	11-10	ایران	۵	۳	۳	۱۸	۳/۳۹	۱/۶۱	۳/۴۳	۱/۹۳	۱/۰۴	۳	۰۰/۱۰	۶۵	۷	۳
۳	ژینکو	ایتالیا	۶	۳	۵	۱۰۹۷	۳/۲۰	۲/۱۴	۲/۷۰	۲/۱۰	۱/۰۳	۳	۳۵/۰۰	۴۸/۱۳	۳	۵
۴	5-6	ایران	۶	۵	۳	۱۰۲۹	۳/۵۸	۱/۷	۳/۰۱	۲/۱۷	۰/۸۰	۲	۰/۰۰	۴۸	۳	۵
۵	D-124	ایران	۶	۵	۳	۱۰۴۷	۳/۴۲	۴/۳۳	۴/۹۰	۲/۷۰	۱/۴۰	۳	۰	۲۵	۳	۳
۶	4-6	ایران	۷	۵	۳	۶۹۱/۵۳	۳/۴۷	۲/۷۲	۳/۴۷	۲/۰۸	۱/۱۶	۲	۲۵	۴۰	۳	۳
۷	3-17	ایران	۶	۳	۷	۹۱۶/۳۸	۳/۴۳	۳/۹۵	۳/۰۸	۲/۰۲	۰/۸۵	۳	۰	۲۴/۳۰	۳	۵
۸	کارمل	امریکا	۵	۲	۳	۵۴۳/۶۶	۳/۴۴	۳/۵۳	۳/۴۱	۲/۲۲	۱/۲۳	۳	۰	۴۴/۲۷	۷	۵
۹	9-7	ایران	۶	۵	۵	۱۱۴	۳/۳۶	۲/۴	۳/۴۰	۲/۶۰	۱/۴۰	۳	۲۰	۵۸/۳۳	۷	۱
۱۰	بوتی	امریکا	۵	۳	۳	۱۱۷۱	۳/۰۲	۳/۵۳	۳/۴۱	۲/۳۲	۱/۴۳	۳	۰	۴۴/۱۷	۷	۳
۱۱	نان پاریل	آمریکا	۵	۳	۵	۵۴۷/۲۴	۴/۰۵	۱/۲۲	۲/۹۴	۱/۸۵	۰/۸۱	۲	۱	۶۶/۱۴	۷	۳
۱۲	16-25	ایران	۵	۵	۵	۱۰۵۷	۱/۳۶	۵/۱۰	۲/۹۲	۲/۶۱	۱/۰۷	۳	۰	۲۰/۹۸	۳	۷
۱۳	2-27	ایران	۵	۵	۵	۱۰۳۳	۳/۷۶	۳/۵۱	۴/۰۰	۲/۶۰	۱/۱۱	۳	۲	۵۳/۰۰	۷	۵
۱۴	9-2	ایران	۶	۵	۷	۱۰۲۶/۷۴	۲/۶۲	۲/۷	۳/۵۰	۲/۰۰	۱/۲۰	۲	۳۰	۴۴/۴۴	۷	۵
۱۵	9-32	ایران	۵	۳	۳	۸۸۲/۵۹	۳/۲۸	۳/۵۶	۳/۰۰	۲/۱۷	۱/۱۳	۵	۲۰	۶۲/۰۰	۳	۵
۱۶	2-29	ایران	۵	۷	۳	۷۸۷/۱۴	۳/۲۴	۳/۲	۳/۹۰	۱/۷۰	۰/۹۵	۳	۳۰	۴۵/۰۰	۷	۵
۱۷	d-99	ایران	۶	۵	۳	۱۱۲۹/۲۶	۳/۱۰	۲/۱۳	۳/۲۰	۲/۲۰	۱/۳۶	۳	۱۰	۶۳/۰۰	۳	۳
۱۸	2-7	ایران	۶	۵	۷	۱۳۴۷	۳/۱۹	۱/۷۶	۳/۳۳	۱/۷۴	۰/۷۹	۲	۰	۴۱/۱۸	۳	۵
۱۹	16-3	ایران	۶	۳	۵	۸۴۶/۱۹	۲/۷۲	۴/۸۷	۳/۴۵	۲/۵۸	۱/۵۹	۱	۰	۳۲/۸۷	۳	۷
۲۰	میرپنج تهران	ایران	۵	۵	۷	۳۰۸۶/۰۶	۲/۳۰	۳/۶۵	۴/۲۰	۱/۹۰	۱/۳۰	۳	۵۵	۵۵	۷	۷
۲۱	پاکوتاه طالقان ۱	ایران	۶	۳	۷	۱۶۱۰/۳۴	۳/۶۲	۴/۲۳	۳/۶۰	۲/۴۰	۱/۴۰	۳	۴۰	۴۰	۵	۵
۲۲	مشهد ۱۰	ایران	۷	۳	۷	۶۷۵/۵۶	۳/۶۹	۶/۰۰	۳/۲۰	۱/۸۰	۰/۷۶	۴	۵۷	۵۷/۰۰	۵	۵
۲۳	مشهد ۶	ایران	۷	۷	۷	۱۱۴۶/۷۶	۳/۹۳	۱/۳۱	۳/۵۰	۱/۹۰	۰/۷۷	۴	۵۵	۵۵	۷	۵
۲۴	ارومیه ۹۸	ایران	۷	۵	۵	۹۳۰/۵۷	۲/۹۹	۵/۶۳	۳/۱۰	۲/۶	۱/۲۰	۴	۲۲	۲۲/۰۰	۳	۷
۲۵	یزد ۴۴۴	ایران	۲	۳	۳	۸۹۵/۲۱	۳/۵۶	۴/۹	۳/۷۰	۱/۹	۱/۸۶	۴	۳۸	۳۸/۰۰	۳	۵
۲۶	یزد ۶۰	ایران	۳	۵	۳	۱۰۴	۳/۵۸	۳/۷	۳/۱۰	۲/۰۰	۱/۴۰	۴	۶۵	۶۵/۰۰	۳	۳
۲۷	زرقان ۲۶	ایران	۷	۳	۷	۱۲۷۹	۳/۷۲	۲/۰۶	۳/۵۰	۲/۰۰	۰/۹۴	۵	۴۵	۴۵/۰۰	۵	۵
						۱۱۰۷										

ادامه جدول ۵- برخی ویژگی‌های مهم ارقام و ژنوتیپ‌های بادام مورد بررسی در این آزمایش.

ردیف	رقم	منشا	زمان گلدهی	قد (م)	تراکم شاخه و برگ	ساقه برگ	نسبت طول به عرض پهنک	وزن خشک میوه	طول خشک میوه	عرض خشک میوه	وزن مغز	رنگ مغز	درصد دوفلزی	درصد مغز	نسبت چربی	زمان رسیدن
۲۸	پاکوتاه طالقان شماره ۲	ایران	۵	۳	۷	۱۴۱۰/۲۹	۳/۲۳	۵/۱۱	۴/۲۶	۳/۲۵	۱/۸۸	۳	۴۸/۹۴	۴۸/۹۴	۵	۷
۲۹	زرقان ۳۶	ایران	۵	۵	۵	۲۹۲۳/۳۶	۳/۱۹	۳/۶۶	۳/۲۰	۲/۲	۱/۴۳	۵	۳۹/۰۰	۳۹	۵	۷
۳۰	۴-۱۰	ایران	۷	۳	۳	۱۸۸۰/۸۰	۳/۲۶	۳/۲۲	۳/۲	۲/۲۱	۱/۳۲	۴	۵۵	۱۰	۵	۵
۳۱	۱۶-۸	ایران	۷	۳	۳	۱۱۰۹/۰۵	۳/۱۵	۳/۴۵	۳/۳۳	۱/۷۴	۱/۷۶	۳	۶۰/۰۰	۰	۹	۳
۳۲	دیر رس ساوجبلاغ	ایران	۷	۳	۳	۸۰۹/۸۸	۲/۹۳	۳/۱۶	۵/۰۰	۳/۸	۰/۹۶	۳	۴۶/۷۴	۴۶/۷۴	۳	۹
۳۳	برگ درشت همدان	ایران	۵	۵	۵	۲۰۷۶/۹۳	۲/۸۷	۴/۷۰	۴/۶۰	۲/۵	۱/۸۰	۳	۵۰/۰۰	۵۰	۳	۷
۳۴	شال قزوین	ایران	۳	۵	۷	۱۱۷۶/۹۲	۲/۹۳	۷/۱	۳/۵۰	۲/۳	۱/۸۰	۳	۵۰/۰۰	۵۰	۳	۵
۳۵	پاکوتاه رزن	ایران	۶	۳	۷	۱۰۸۳/۱۸	۲/۶۹	۷/۱	۴/۳۰	۲/۵	۱/۲۰	۳	۲۵/۰۰	۲۵	۳	۷
۳۶	برگ سیاه قزوین	ایران	۶	۵	۷	۱۳۷۹/۰۲	۳/۱۶	۲/۴۲	۳/۰۰	۱/۴	۱/۵۰	۳	۶۰/۰۰	۶۰	۵	۵
۳۷	هیبرید هلو و بادام	ایران	۶	۳	۷	۱۶۵۴/۱۸	۳/۷۳	۳/۴	۳/۲۰	۱/۹	۰/۷۰	۴	۲۰/۰۰	۲۰	۱	۷
۳۸	کرمان ۱۶	ایران	۷	۳	۷	۱۰۹۳/۱۶	۲/۷۶	۱/۳۰	۳/۹۰	۲/۶	۰/۶۷	۳	۲۵/۰۰	۲۵	۳	۷
۳۹	کرمان ۵	ایران	۷	۵	۷	۱۲۵۱/۱۸	۲/۴۷	۲/۷۰	۳/۷۰	۲/۷	۱/۳۰	۳	۲۲/۰۰	۲۲	۳	۵



شکل ۱- الگوی بانندی حاصل از آغازگر BA-17 در ۳۹ رقم و ژنوتیپ بادام مورد بررسی با نشانگر RAPD.

جدول ۶- تعداد کل باندهای تولید شده توسط هر آغازگر RAPD به کار رفته روی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام، تعداد باندهای چندشکل، درصد چند شکلی و قدرت تفکیک هر آغازگر.

ردیف	نام آغازگر	تعداد کل باند	تعداد باند چند شکل	درصد چندشکلی	Rp قدرت تفکیک ¹
۱	BA-04	۱۲	۱۲	۱۰۰	۳/۱۳
۲	BA-05	۱۵	۱۵	۱۰۰	۸/۷۷
۳	BA-17	۱۶	۱۶	۱۰۰	۸/۴۶
۴	BA-20	۱۳	۱۲	۹۲/۳	۵/۲۳
۵	BB-05	۱۷	۱۵	۸۸/۲	۶/۸۷
۶	BB-08	۱۹	۱۹	۱۰۰	۷/۳۳
۷	BB-12	۸	۸	۱۰۰	۵/۲۳
۸	BB-16	۱۱	۱۰	۹۱	۳/۹۰
۹	BB-17	۲۰	۲۰	۱۰۰	۹/۹۰
۱۰	BD-04	۲۳	۲۳	۱۰۰	۱۱/۰۳
۱۱	BD-06	۸	۷	۸۷/۵	۴/۰۵
۱۲	BD-09	۱۰	۹	۹۰	۵/۷۴
۱۳	BD-10	۲۰	۲۰	۱۰۰	۱۳/۶۴
۱۴	BE-09	۸	۸	۱۰۰	۴/۲۱
۱۵	BE-18	۱۰	۱۰	۱۰۰	۵/۲۳
۱۶	BE-20	۱۶	۱۵	۹۳/۸	۸/۷۲
۱۷	OPB-17	۲۲	۲۱	۹۵/۵	۵/۵۹
۱۸	OPC-07	۱۶	۱۵	۹۳/۸	۷/۸۵
۱۹	OPC-12	۲۰	۲۰	۱۰۰	۹/۳۳
۲۰	OPG-13	۱۳	۱۳	۱۰۰	۶/۸۲
مجموع		۲۹۷	۲۸۸	۱۹۳۲/۱	۱۴۱/۰۳
میانگین		۱۴/۸۵	۱۴/۴۰	۹۶/۶۱	۷/۰۵

1- Resolution Power

نشانه‌گر RAPD کارآیی لازم برای بررسی و مطالعه تنوع ژنتیکی بین ارقام بادام را دارا می‌باشد.

ضرایب تشابه ژنتیکی

نتایج حاصل از ماتریس تشابه نشان داد که متوسط تشابه بین ارقام و ژنوتیپ‌ها ۰/۴۲ می‌باشد. بر اساس نتایج کمترین شباهت را ژنوتیپ (هیبرید هلو و بادام) با ژنوتیپ (۱۶-۸) (۰/۲۵)، رقم (فریتز) (۰/۲۶) و رقم (ژینکو) (۰/۲۶)، ژنوتیپ (کرمان ۱۶) با رقم (فریتز) (۰/۲۷)، رقم (ژینکو) (۰/۲۷) و رقم (بوتی) (۰/۲۷) داشت. ژنوتیپ (هیبرید هلو و بادام) حداقل تشابه را با بقیه نشان داد و ضرایب تشابه بین این ژنوتیپ و سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها کمتر از ۴۰ درصد (۰/۳۲) بود. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده حداقل تشابه موجود بین ژنوتیپ‌های داخلی و ارقام خارجی

(Shiran et al. 2007) با استفاده از ۴۲ آغازگر RAPD تنوع ژنتیکی ۳۹ رقم و گونه بادام را مورد بررسی قرار داده و در مجموع ۷۲۹ باند مشاهده کردند که از این میزان ۶۶۴ باند چند شکل بودند و ۹۱/۱ درصد چند شکلی تولید کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که تعداد باندهای بدست آمده از ۵ (برای آغازگر OPM₄₀ و OPM₄₈) تا ۳۵ (برای آغازگر OPM₃₇) و با میانگین ۱۷/۳ باند برای هر آغازگر، متنوع بود. همچنین نتایج بدست آمده با یافته‌های گزارش شده (Martinez-Gomez et al. 2003) و Mirali and Nabulsi (2003) که با به کار بردن تعداد زیادی آغازگر در تحقیق خود توانستند در بین تمام ارقام بادام مورد مطالعه تمایز ایجاد کنند، مطابقت داشت. این نتایج نشان داد که

بدست آمده که می‌تواند ناشی از منشاء جغرافیایی آن‌ها باشد (۱۴ و ۲۲). هر چند کمترین تشابه بین دو ژنوتیپ داخلی (هیبرید هلو و بادام و ژنوتیپ ۸-۱۶) بدست آمد که دلیل آن می‌تواند به خاطر تفاوت زیاد ژنوتیپ (هیبرید هلو و بادام) با اکثر ارقام و ژنوتیپ‌ها که مطابق با خصوصیات مورفولوژیکی این ژنوتیپ نیز بود و از طرفی بدلیل اینکه شاید ژنوتیپ (۸-۱۶) منشاء داخلی نداشته و احتمالا اشتباه در نام‌گذاری و برچسب زدن صورت گرفته باشد، هر چند نتیجه‌گیری قطعی نیازمند تحقیق و بررسی بیشتر می‌باشد. خصوصیات مورفولوژیک ژنوتیپ (هیبرید هلو و بادام) مثل شکل برگ و میوه این ژنوتیپ نشان می‌دهد که حد واسط هلو و بادام می‌باشد. بررسی‌های سیتولوژیکی و ملکولی اختصاصی برای اطمینان بیشتر از این موضوع ضروری به نظر می‌رسد. (Shiran et al. 2007) ضریب تشابه بین ارقام و گونه‌های وحشی بادام را از حداکثر ۰/۹۲ (بین رقم سفید و منقا) تا حداقل ۰/۳۲ (بین ژنوتیپ ایرانی سنگی ۲۸ و گونه وحشی *P.scoparia*) با میانگین ۰/۶۶ با استفاده از نشانگر RAPD را گزارش کردند که میزان بالایی از تنوع ژنتیکی در بادام‌های مورد بررسی را نشان داد که همسو با نتایج بدست آمده از این تحقیق بود. همچنین نتایج حاصل از ماتریس تشابه نشان داد که بیشترین شباهت (۰/۷۸) مربوط به ژنوتیپ‌های (یزد ۴۴) و (یزد ۶۰) بود. همچنین شباهت ژنوتیپ (یزد ۴۴) با ژنوتیپ (ارومیه ۹۸) (۰/۶۹) و (مشهد ۱۰) (۰/۶۶) نسبتا بالا بود. ژنوتیپ (یزد ۶۰) نیز شباهت بالایی با ژنوتیپ‌های (مشهد ۱۰) و (ارومیه ۹۸) (۰/۶۳) داشت. وجود شباهت‌ها و نزدیکی ژنتیکی در بین برخی از ژنوتیپ‌ها و ارقام بدلیل یکسان بودن منشاء جغرافیایی و تکثیر بذری این ارقام می‌باشد. برای نمونه دلیل تشابه زیاد ژنوتیپ‌های (یزد ۴۴) و (یزد ۶۰) می‌تواند یکسان بودن منشاء جغرافیایی آن‌ها باشد. همچنین این دو ژنوتیپ از نظر مورفولوژیکی به صورت درختی با قدرت رشد نسبتا متوسط، عادت رشد نیمه گسترده، تراکم متوسط شاخه و برگ، زود گل، نسبت یکسان طول به عرض برگ، وزن خشک میوه و مغز نسبتا یکسان، رنگ مغز روشن و دارای پوست سخت چوبی بودند. این نتایج می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که غالب بودن نشانگر RAPD شاید نتایج هتروزیگوت حاصل از روابط خویشاوندی را بپوشاند و از طرفی

با وجود تشابه مورفولوژیکی درخت، گل و میوه، نشانگر RAPD مورد استفاده قادر به تمایز این دو از یکدیگر بود. نتایج بدست آمده با یافته‌های Shiran et al. 2007 مطابقت داشت که با استفاده از نشانگر RAPD در بررسی تنوع ارقام ایرانی گزارش کردند که ارقام (سفید) و (منقا) دارای بالاترین میزان ضریب تشابه (۰/۹۳) و از نظر مورفولوژیکی این دو رقم به صورت درختی با قدرت رشد متوسط، عادت رشد عمودی، زودگل، زودرسی میوه، وزن مغز و خشک یکسان و میزان دوقلویی یکسان بودند و نتایج حاصل از نشانگر RAPD را توجیه کردند. با این حال (2003a) Martinez-Gomez et al. گزارش کردند که در ارقام بادام با ضریب تشابه ۰/۹۴ و بالاتر نمی‌توان فاصله قابل ملاحظه‌ای بین ارقام در نظر گرفت.

تجزیه خوشه‌ای

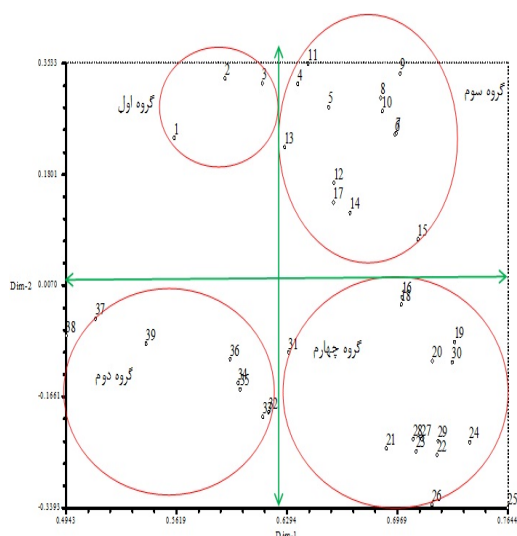
تجزیه خوشه‌ای حاصل از ماتریس ضرایب تشابه که با روش UPGMA حاصل شد، در فاصله ۰/۴۴ ارقام و ژنوتیپ‌ها را در ۸ گروه، تفکیک کرد. نمودار خوشه‌ای حاصله نشان داد که تنوع قابل توجهی در بین ارقام و ژنوتیپ‌ها وجود دارد به طوری که متوسط تشابه بین ارقام و ژنوتیپ‌ها ۰/۴۲ بود. بر اساس نتایج حاصل از کلاستر (شکل ۲) ۸ گروه اصلی در فاصله ۰/۴۴ در کلاسترهای اصلی قرار گرفتند. همچنین اکثر کلاسترهای اصلی دارای زیر گروه‌های فرعی نیز بودند. بر اساس نتایج بدست آمده رقم (فریتز) و ژنوتیپ (۱۰-۱۱) در گروه اول قرار گرفتند که ضریب تشابه آن‌ها نیز ۰/۴۹ = r بود. ارقام خارجی (نان پاریل)، (بوتی)، (کارمل)، (ژینکو) و ژنوتیپ‌های شماره (۶-۵)، (۶-۴)، (۱۷-۳) و (۷-۹) و (۱۲۴-D) در گروه دوم قرار گرفتند. البته خود این گروه نیز به چند زیر گروه تفکیک گردید. در زیر گروه اول رقم ژینکو به تنهایی قرار گرفت که با توجه به منشاء این رقم که کشور ایتالیا می‌باشد قابل انتظار بود. نکته قابل توجه شباهت زیاد مورفولوژیکی و مولکولی ژنوتیپ (۱۲۴-D) با ارقام امریکایی بود. گروه سوم بیشترین تعداد ژنوتیپ‌های مورد بررسی را شامل شد. دو ژنوتیپ (یزد ۴۴) و (یزد ۶۰) که بیشترین تشابه را (۰/۷۸) داشتند در این گروه قرار گرفتند. نکته قابل توجه قرار گرفتن ژنوتیپ (پاکوتاه شماره ۱ طالقان) و ژنوتیپ (۱۰-۴) به تنهایی در یک زیر شاخه فرعی بود. از نظر مورفولوژیکی نیز این دو ژنوتیپ

نسبتاً متفاوت از سایر ژنوتیپ‌های قرار گرفته در این گروه بودند. همچنین ژنوتیپ‌های هر منطقه در داخل این گروه به طور جداگانه در یک زیر شاخه فرعی قرار گرفتند که منطبق با منشاء جغرافیایی این ژنوتیپ‌ها بود. نتایج بدست آمده از تجزیه خوشه ای نشان داد که ژنوتیپ (دیررس ساوجبلاغ) و (شماره ۸-۱۶) در یک گروه مجزا (گروه چهارم) قرار گرفتند که منطبق با خصوصیات مورفولوژیکی این ژنوتیپ‌ها نیز بود. نکته مهم برتر بودن هر دو ژنوتیپ از نظر برخی صفات مهم مورفولوژیکی مثل خصوصیات خشک میوه و مغز بود که از جمله ژنوتیپ‌های امید بخش جهت مطالعه بیشتر و استفاده در برنامه‌های اصلاحی می‌باشند. همچنین طبق نتایج بدست آمده از تجزیه خوشه‌ای در این تحقیق ژنوتیپ (برگ درشت همدان) به تنهایی در گروه پنجم قرار گرفت. نکته مهم تفاوت بارز مورفولوژیکی این ژنوتیپ با سایر ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق بود که با قرار گرفتن در یک گروه مجزا مشخص گردید که از نظر ژنتیکی نیز متفاوت از سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها می‌باشد. نکته مهم جدا شدن ژنوتیپ (پاکوتاه رزن) از ژنوتیپ (برگ درشت همدان) و قرار گرفتن در گروه ژنوتیپ‌های استان قزوین بود. به طوری که ژنوتیپ‌های (شال قزوین)، (پاکوتاه رزن) و (برگ سیاه قزوین) در یک گروه (گروه ششم) قرار گرفتند. با توجه به این که از نظر جغرافیایی و اقلیمی شهرستان رزن نسبتاً نزدیک و مشابه استان قزوین می‌باشد، این نتیجه قابل توجیه می‌باشد. نتیجه قابل توجه بدست آمده در این تحقیق قرار گرفتن ژنوتیپ (هیبرید هلو و بادام) به تنهایی در یک گروه مجزا بود. این ژنوتیپ کمترین تشابه ژنتیکی (۰/۳۴) را با سایر ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی داشت به طوری که از نظر مورفولوژیکی نیز حدواسط هلو و بادام بود. با توجه به اینکه این ژنوتیپ از نظر هیبرید بین گونه‌ای می‌تواند به عنوان یک شاخص در نظر گرفته شود، لذا مطالعات بیشتر در جهت تعیین سطوح کرموزمی و همچنین سایر مشخصات ملکولی به منظور استفاده در برنامه‌های اصلاحی بادام و هلو به خصوص در زمینه اصلاح پایه‌های درختان هسته‌دار می‌تواند مفید واقع شود. بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق مقدار ضریب کوفتتیک برای کل قطعات تکثیر شده RAPD که نشان دهنده همبستگی بین ماتریس تشابه و کلاستر می‌باشد، معنی‌دار و بالا ($r=0/86$) به

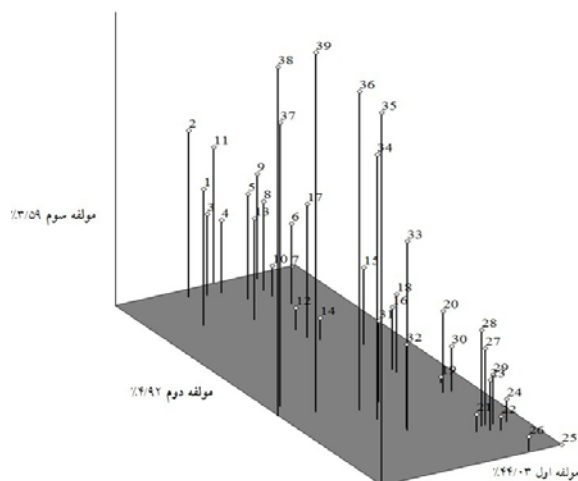
دست آمد که این مقدار بیان کننده همبستگی مناسب ماتریس تشابه و کلاستر است و از طرفی اطمینان خوبی از روابط بدست آمده از ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را می‌دهد. دندروگرام بدست آمده در این تحقیق روابط بین اکثر ارقام و ژنوتیپ‌ها را منعکس می‌کند که وابسته به منطقه انتشار و یا اطلاعات نژادی آن‌ها می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که همبستگی بین داده‌های مورفولوژیکی و مولکولی حاصل از نشانگر RAPD برای ۳۹ رقم و ژنوتیپ مورد بررسی در این تحقیق معنی دار نبود. به طوری که میزان همبستگی محاسبه شده $r=0/10$ بدست آمد. بر اساس آزمایشات قبلی (Martinez-Gomez et al. (2003)، یک گروه بندی مشخص از ارقام مختلف بادام بر اساس منشاء جغرافیایی با استفاده از نشانگر RAPD بدست آوردند. آنها مشخص کردند که ارقام با منشاء اروپایی و آمریکایی در گروه های مختلف کلاستر بندی می‌شوند. همچنین با تکرار دوباره واکنش‌های تکثیر و استفاده از معیار حفاظتی از باند انتخابی، می‌توان داده‌های قابل اطمینانی را از RAPD بدست آورد. روابط خویشاوندی ارقام و ژنوتیپ‌های مطالعه شده به واسطه استفاده از نشانگرهای RAPD در این تحقیق ثابت گردید. نتایج بدست آمده در این تحقیق می‌تواند در جهت مدیریت بهتر، شناسایی ارقام و جلوگیری از اشتباه در نام‌گذاری ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مفید باشد.

آزمون تجزیه پلات

آزمون دی پلات بر اساس دو مولفه اول و دوم ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به ۴ دسته که اجزاء هر دسته نزدیک هم قرار گرفته‌اند تقسیم نمود. معیار گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌ها بر اساس مختصات و تجمع آن‌ها در فاصله ۰/۶۰ محور مختصات بود. در این آزمون به خوبی می‌توان جدا شدن ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بادام مورد بررسی را مشاهده نمود (شکل ۳). در آزمون تری پلات بر اساس سه مولفه اول ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در گروه‌های مجزا قرار گرفتند (شکل ۴). پراکنش سه بعدی ارقام و ژنوتیپ‌ها در بین سه مولفه اول نمایی عمومی از روابط ژنتیکی بین ارقام و ژنوتیپ‌ها را نشان داد که در موارد متعددی با نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای تطابق دارد. اما مواردی



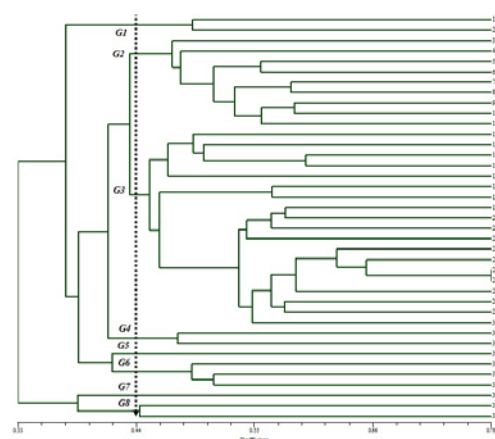
شکل ۳- الگوی دو بعدی پراکنش ارقام و ژنوتیپ‌های بادام مورد بررسی با استفاده از دو مولفه اول حاصل از تجزیه فاکتور داده‌های RAPD (شماره‌ها معرف ارقام و ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول شماره ۱ است).



شکل ۴- الگوی سه بعدی پراکنش ژنوتیپ‌های بادام مورد بررسی با استفاده از سه مولفه اول حاصل از تجزیه فاکتور داده‌های RAPD (شماره‌ها معرف ارقام و ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول شماره ۱ است).

نتیجه گیری کلی

ژنوتیپ‌های (پاکوتاه شماره ۱ و ۲ طالقان)، (پاکوتاه رزن) و (هیبرید هلو و بادام) با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی (از نظر تیپ رشدی، ارتفاع کم، برگ‌های درشت، خصوصیات خشک میوه و ...) و مولکولی (قرار گرفتن در گروه‌های مجزا و دارا بودن فاصله ژنتیکی قابل ملاحظه نسبت به سایر ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی) به عنوان ژنوتیپ‌های کاندید قابل استفاده در برنامه‌های اصلاح بادام و هلو می‌باشند. هر چند تعیین سازگاری آن‌ها با ارقام و ژنوتیپ‌های دیگر، بررسی‌های فیزیولوژیکی و



شکل ۲- گروه بندی ۳۹ رقم و ژنوتیپ بادام بر اساس نشانگر مولکولی RAPD با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA (شماره‌ها مربوط به ژنوتیپ‌ها بر اساس جدول شماره ۱ است).

نیز متفاوت از نتایج به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای مشاهده گردید. در تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ (۲-۹) و (۳۲-۹) در یک گروه قرار گرفتند درحالی‌که این دو ژنوتیپ در آنالیز تری پلات تا حدی جدا از یکدیگر بودند. همچنین ژنوتیپ‌های (میرپنج تهران، (۳-۱۶) و (۱۰-۴) هر چند در تجزیه خوشه‌ای در یک گروه قرار گرفتند اما فاصله آن‌ها از یکدیگر نسبتاً زیاد بود اما در تجزیه تری پلات هر سه ژنوتیپ در فاصله نزدیک‌تری نسبت به هم و در یک گروه مجزا قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های (هیبرید هلو و بادام)، (۱۰-۱۱) و (۲۵-۱۶) در داخل گروه‌های خود نسبتاً مجزا از سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها قرار گرفتند که مشابه نتایج بدست آمده از تجزیه کلاستر بود. نتایج بدست آمده در این تحقیق، در بررسی گونه‌های مختلف جنس *Prunus* با استفاده از نشانگر AFLP نیز گزارش شده است. در داده‌های مولکولی هر قدر درصد واریانس اختصاص یافته به عامل‌های اصلی کمتر باشد توزیع بهتری داشته و تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آن‌ها کارآمدتر خواهد بود. نتایج بدست آمده از گروه‌بندی و تفکیک ارقام و ژنوتیپ‌ها در تجزیه به عامل‌ها با نتایج Casas et al. (1999) و Mirali (2003) and Nabulsi and مطابقت داشت که نشانگر RAPD را نشانگری کارآمد در شناسایی و گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام معرفی کردند.

دو ژنوتیپ بود. از طرفی ژنوتیپ (هیبرید هلو و بادام) کمترین میزان تشابه را با سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها نشان داد. در مجموع وجود شباهت‌های ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های برخاسته از یک منطقه با توجه به روش تکثیر بذری در ایران، منطقی به نظر می‌رسد. همچنین هر چه محل جمع‌آوری دو نمونه نزدیک‌تر بوده تفاوت کمتری نیز بین آن‌ها مشاهده شده است. علاوه بر این بدلیل عدم وجود موانع بیولوژیکی در زیر جنس *Amygdalus* اثر هیبرید بین گونه‌ای، تبادل ژنی به طور طبیعی رخ می‌دهد (۷). همچنین ژنوتیپ (برگ درشت همدان) دارای خصوصیات مورفولوژیکی و مولکولی متفاوتی نسبت به کلیه ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی داشت که بدلیل فاصله ژنتیکی مناسب، قابل استفاده در برنامه‌های اصلاحی بادام می‌باشد. آزمایش حاضر نشان داد که نشانگر RAPD برای گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام و مطالعه روابط ژنتیکی بین آن‌ها علائق مناسب و مشکلاتی مثل تکرارپذیری کم و حساس بودن به شرایط آزمایشگاهی با دارا بودن محاسن سادگی، ارزانی و سرعت عمل برای شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌های بادام کارایی مطلوب و مناسبی دارد. همچنین با استفاده از نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان برای انتخاب صحیح والدین با فاصله ژنتیکی کافی به منظور تلاقی‌های هدفمند در برنامه‌های اصلاحی بادام، اقدام نمود.

منابع

- Aradhya MK, Weeks C, Simon CJ (2004) Molecular characterization of variability and relationships among seven cultivated and selected wild species of *Prunus* L. using amplified fragment length polymorphism. *Scientia Horticulturae*, 103: 131-144.
- Arulsekhar S, Parfitt DE, Kester DE (1986) Comparison of isozyme variability in peach and almond cultivars. *Journal of heredity*, 77: 272-274.
- Badenes ML, Parfitt DE (1995). Phylogentic relationships of cultivated *Prunus* species from an analysis of chloroplast DNA variation. *Theoretical and Applied Genetics*, 90: 1035-1041.
- Baranek M, Raddova J, Pidra M (2006) Comparative analysis of genetic diversity in *prunus* L. as revealed by RAPD and SSR markers. *HortScience*, 108: 253-2598.
- Bartolozzi F, Warburton ML, Arulsekhar S, Gradziel TM (1998) Genetic characterization and relatedness among California almond cultivars and breeding lines detected by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123: 381-387.

انجام سایر آزمایشات مثل ارزیابی مقاومت به تنش‌های زنده و غیر زنده جهت استفاده بهتر از این ژنوتیپ‌ها ضروری به نظر می‌رسد. همچنین ژنوتیپ (هیبرید هلو و بادام) به منظور مطالعات بین گونه‌ای و استفاده از آن به عنوان یکی از والدین جهت تهیه جمعیت در حال تفرق برای ایجاد نقشه ژنتیکی برای جنس پرونوس می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. از طرفی اطمینان از باروری نتاج حاصل از تلاقی اولیه این ژنوتیپ با والد دیگر ضروری می‌باشد. کلاستر حاصل از ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD در این تحقیق شامل دو دسته اصلی بود. دسته اول شامل گروه‌های اول و دوم کلاستر بود که ارقام خارجی و ژنوتیپ‌های داخلی با هم در این دسته قرار گرفتند و دسته دوم شامل گروه‌های سوم تا هشتم کلاستر بود که فقط ژنوتیپ‌های داخلی را در بر گرفت و هیچ‌یک از ارقام خارجی در این دسته قرار نگرفتند. ژنوتیپ‌های (۱۲۴)-D، (۱۰)- (۱۱)، (۵-۶)، (۴-۶)، (۳-۱۷) و (۹-۷) خصوصیات مورفولوژیکی و مولکولی نسبتاً مشابه ارقام خارجی به خصوص ارقام امریکایی مورد بررسی داشتند که احتمالاً این ارقام یکی از والدین ژنوتیپ‌های ذکر شده می‌باشند. ژنوتیپ (یزد ۴۴) و (یزد ۶۰) بیشترین شباهت را در بین ارقام مورد مطالعه نسبت به یکدیگر داشتند منطبق با منشاء جغرافیایی و برخی خصوصیات مورفولوژیکی این

- Bretting PK, Widriechner MP (1995) Genetic markers and plant genetic resource management. *Plant Breeding*, 13: 11-86.
- Browicz K, Zohary D (1996) The genus *Amygdalus* L. (Rosaceae): Species relationships, distribution and evolution under domestication. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 43: 229-247.
- Byrne DH (1990) Isozyme variability in 4 diploid stone fruits compared with other woody perennial plants. *Journal of heredity*, 81: 68-71.
- Casas AM, Igartua E, Balaguer G, Moreno MA (1999) Genetic diversity of *Prunus* rootstocks by RAPD markers. *Euphytica*, 110: 139-146.
- Cipriani G, Lot G, Huang WG, Marrazzo MT, Peterlunger E, Testolin R (1999) AC/GT and AG/CT microsatellites repeats in peach (*Prunus persica* L. Batsch): isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 100: 713-722.
- Gulcan R (1985) Descriptor List for Almond (*Prunus amygdalus*) (Revised). International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR), Rome, pp: 32.

- Kester DE, Gradziel TM, Grasselly C (1991) Almonds (*Prunus*). In: Moore, J.N., Ballington, H.J. (Eds.). Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops. International Society for Horticultural Science, the Netherlands, pp: 701-758.
- Kester DE, Gradziel TM (1996) Almonds, in: Janick J., Moore J. N. (Eds.), *Fruit Breeding*. Vol. 3. Nuts, John Wiley and Sons, New York, pp: 1-97.
- Martinez-Gomez P, Arulesekar S, Potter D, Gradziel T M (2003) Relationships among peach, almond, and related species as detected by simple sequence repeat Markers. American Society for Horticultural Science, 128: 667-671.
- Martinez-Gomez P, Sanchez-Perez R, Dicenta F, Howad W, Arus P, Gradziel TM (Eds) (2007) Fruits and Nuts. Vol. 4. Almond. In Kole, C. (ed). *Genome Mapping and Molecular Breeding in plants*, pp: 229-242.
- Martins M, Farinha A, Ferreira E, Cordeiro V, Monteiro A, Tenreiro R and Oliveira M (2001) Molecular analysis of the genetic variability of Portuguese almond collection. *Acta Horticulturae*, 546: 449-456.
- Martins M, Tenreiro R, Oliveira M (2003) Genetic relatedness of Portuguese almond collection assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Reports*, 22: 71-78.
- Mirali M, Nabulsi I (2003) Genetic diversity of almond (*Prunus dulcis*) using RAPD technique, *Scientia Horticulturae*, 98: 461-471.
- Mohammadi SA, Parmasa BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. *CropScience Journal*, 43: 1235-1248.
- Murray M, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8: 4321- 4325.
- Sanchez-Perez R, Dicenta F, Gradziel TM, Arus P, Martinez-Gomez P (2004) Application of molecular markers in almond breeding programmes. *Nucis-Newsletter*, 12: 9-12.
- Shiran B, Amirbakhtiar N, Kiani S, Mohammadi Sh, Sayed Tabatabaei E, Moradi T (2007) Molecular characterization and genetic relationship among almond cultivars assessed by RAPD and SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 111: 280-292.
- Viruel MA, Messeguer R, Vicente MC, Garcia-Mas, J, Puigdomenech P, Vargas FJ, Arus P (1995) A linkage map with RFLP and isozyme markers for almond. *Theoretical and Applied Genetics*, 91: 964-971.
- Welsh J, McClelland M (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18: 7213-7218.
- Woolley FM, Collins GG, Sedgely M (2000) Application of DNA fingerprinting for the classification of selected almond [*Prunus dulcis* (Miller) D.A. Webb] cultivars. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 40: 995-1001.
- Wunsch A, Hormaza JI (2002) Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. *Euphytica*, 125: 56-67.
- Xu Y, Ma RC, Xie H, Cao MQ (2004) Development of SSR markers for the phylogenetic analysis of almond trees from China and the Mediterranean region. *Genome*, 47: 1091-1104.