ژنتیک نوین
دوره هجدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲
صفحه ۱۰۹ - ۹۷

بررسی تنوع ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های امید بخش انگور وارد شده از کشور روسیه با استفاده از نشانگر DNA بین ریزماهواره‌ای (ISSR)

Genetic Diversity of Promised Russian Grapevine Genotype and Varieties by Using Inter Single Sequence Repeat (ISSR) DNA Marker

ولی‌اله رسولی*[۱]

۱- استادیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

Rasoli V*[1]

1- Assistance Professor, Temperate Fruit Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:spiiqv@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۳۰)

چکیده

انگور یکی از محصول‌های مهم باغی در دنیا و ایران به‌شمار می‌رود و از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است. تعیین سطح تنوع ژنتیکی اولین قدم در اجرای برنامه‌های به‌نژادی است. اطلاع از تنوع ژنتیکی علاوه بر ارائه اطلاعاتی در زمینه روابط تکاملی و فیلوژنتیکی، نقشه ژنتیکی، سازگاری‌های اکولوژیکی و محیطی و در نهایت انتخاب والدین مطلوب در برنامه‌های اصلاحی، موجب کاهش مدت زمان و هزینه پروژه‌های اصلاحی خواهد شد. این تحقیق به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۶۹ رقم و ژنوتیپ‌های امید بخش انگور روسی به‌همراه سه رقم انگور تجاری ایرانی با استفاده از ۱۵ نشانگر بین ریزماهواره‌ای (ISSR) انجام گرفت. فراورده‌های حاصل از PCR بر روی ژل آگارز ۱/۳ درصد، الکتروفورز شدند. پس از اختصاص یک و صفر به وجود یا عدم وجود نوار در هر آغازگر برای هر ژنوتیپ، تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر مبنای ضریب تشابه جاکارد انجام گرفت. بیشترین درصد چندشکلی (۱۰۰ درصد) مربوط به آغازگرهای UBC-823، UBC-825، UBC-841، UBC-846، UBC-855 و UBC-873 و کمترین آن نیز (۶۶/۷ درصد) مربوط به آغازگر UBC-817 بود. بیشترین و کمترین میزان شاخص محتوای چند شکلی به‌ترتیب در آغازگرهای UBC-825 (۰/۴۸۷) و UBC-856 (۰/۲۱۶) مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان شاخص نشانگر به‌ترتیب ۲/۷۱۸ و ۰/۹۰۴ به‌ترتیب مربوط به آغازگرهای UBC-889 و UBC-817 بود. از نظر شاخص EMR (Effective Multiplex Ratio) نیز بیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب ۷ و ۱/۳۳ مربوط به آغازگرهایUBC-841 و UBC-817 بود. بیشترین و کمترین مقدار قدرت تفکیک به‌ترتیب ۸/۱۱ و ۲ در آغازگرهای UBC-877 و UBC-841 دیده شد. دو آغازگر UBC-815 و UBC-834 نوارهای واضح و قابل امتیازی نداشتند. از ۱۳ آغازگر نشانگر مولکولی ISSR، به‌طورکلی ۷۳ نوار به‌دست آمد که ۶۴ نوار چند شکل بودند و درصد چندشکلی کل ۸۸/۱٪ برآورد شد. بیشترین و کمترین تعداد نوارها به‌ترتیب هشت و دو نوار مربوط به آغازگرهای UBC-826 و UBC-817 بود. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر مبنای ضریب تشابه جاکارد منجر به طبقه‌بندی ۷۲ رقم انگور با مقدار تشابه بین ۰/۸۹-۰/۱۲ در ۷ گروه متفاوت شد. در مطالعه حاضر تنوع بالایی در میان ارقام انگور مورد مطالعه مشاهده شد. این امر ممکن است نشان‌دهنده متفاوت بودن منشاء جغرافیای ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی باشد.

واژه‌های کلیدی

انگور
تابع تشخیص خطی
تاک
تنوع ژنتیکی
چندشکلی ژنتیکی
قرابت ژنتیکی
نشانگر

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

گونه اروپایی تاک (*Vitis vinifera* L.) بومی آسیای‌غربی و اروپا، در محدوده عرض جغرافیایی ۳۰ تا ۵۰ درجه شمالی مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. مناطق گسترش طبیعی آن به‌دلیل عوامل محدودکننده محیطی ازجمله رطوبت و هوای خشک، در دامنه کوه‌های آتش‌فشانی از جنوب قفقاز بین دریای سیاه و دریای خزر تا نواحی مدیترانه‌ای محدود شده است. این‌گونه در دنیا دارای بیش از ۱۴ هزار رقم می‌باشد که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای این گونه گیاهی است (Fatahi et al. 2003). ایران با تولید حدود ۲/۵ میلیون تن و سطح زیر کشت بیش از ۲۰۷ هزار هکتار انگور در سال ۲۰۱۶، توانسته مقام هشتم جهانی را به‌خود اختصاص دهد (F.A.O. 2020). انگور برای تولید آب انگور تخمیر شده و دیگر نوشیدنی‌های تخمیر شدنی فراوری می‌شوند. هم‌چنین از انگور برای مصارف تازه‌خوری و خشک (کشمش) و نیز به‌عنوان آب‌میوه غیر تخمیری و غلیظ شده استفاده می‌شود (Rasoli 2019). از مجموع ۲۳/۵ میلیون تن تولید محصول باغبانی بر اساس آمار نامه محصولات باغی منتشر شده در سال ۱۳۹۹ در ایران، حدود ۳/۳ میلیون تن معادل ۱۸/۵ درصد مربوط به میوه‌های دانه‌ریز بوده و میزان تولید انگور، ۹۷/۶ درصد از کل میزان تولید میوه‌های دانه‌ریز را به‌خود اختصاص می‌دهد. بیشترین تولید انگور کشور متعلق به استان‌های فارس با ۵۴۸۴۱۷ تن، قزوین با ۳۴۳۰۴۵ تن، همدان با ۳۶۲۳۰۶، خراسان رضوی با ۳۴۶۴۵۵ تن و آذربایجان شرقی با ۲۳۷۳۶۶ تن می‌باشد (آمارنامه وزارت کشاورزی، ۱۳۹۹). کشمش به‌عنوان اولین ماده غذایی فراوری شده انگور، پس از پسته، دومین محصول با ارزش صادرات غیر نفتی ایران است (Mahmoudzadeh and Rasoli 2015).

با توجه به تنوع ژنتیکی بالای این گونه با ارزش گیاهی، تعیین سطح تنوع ژنتیکی علاوه بر حفاظت گیاهی، در برنامه‌های اصلاحی نیز حائز اهمیت می‌باشد. کلید موفقیت برنامه‌های به‌نژادی انگور مانند سایر محصول‌های کشاورزی، به‌طور عمده بر وجود تنوع ژنتیکی استوار است. برای هر کار اصلاحی وجود منابع ژنتیکی با تنوع کافی بر اساس اهداف اصلاحی باید شناسایی و یا ایجاد شود. بررسی ساختار و سطح تنوع ژنتیکی در انگور در راستای انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت زیادی برخوردار است (Rasoli and Golmohammadi 2007; Crespan and Milani 2001). اطلاع از تنوع ژنتیکی در سطح مولکولی DNA برای بررسی روابط تکاملی و فیلوژنتیکی، تهیه نقشه ژنتیکی، ارزیابی صفات، سازگاری‌های محیطی، کاهش هزینه‌های به‌نژادی، تعیین والدین برای انجام تلاقی و کاهش مدت زمان به‌نژادی از اهمیت ویژه‌ای برخودار است. رده‌های مربوط به گونه‌های مهم محصول‌های کشاورزی تقریباً از تنوع ژنتیکی باارزش بالایی برخوردار می‌باشند. قبل از شروع پروژه‌های اصلاح یا شناسایی ژن‌ها، تعیین روابط فیلوژنتیک بین گونه‌های مربوط بسیار مهم است.

مطالعات گذشته نشان می‌دهد گیاهان بومی از جمله جنس *Vitis* منابعی با ارزش از ژن‌های مقاومت به تنش‌های محیطی هستند (Rasoli 2019).

در انگور، مطالعات متعددی به‌منظور شناسایی ژن‌های جدید و مفید در افزایش کمیت و کیفیت انواع ارقام انگور تاکنون انجام شده است (Alizadeh and Singh 2009; Zeinali et al. 2012; Seyedimoradi et al. 2012; Choudhary et al. 2014; Salimia and Mujahed 2019; Beibei et al. 2021). اولین گام در استفاده از تنوع موجود در ژرم‌پلاسم انگور، تعیین روابط بین ارقام گونه *Vitis vinifera* و سایر گونه‌های Vitaceae می‌باشد.

داده‌های مولکولی اطلاعات جدیدی در ارتباط با روابط فیلوژنتیکی و نیز تعیین مرز ارتباطی بین رده‌ها فراهم کرده است. به‌طور کلی نشانگرهای DNA را می‌توان به نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)[1] (SSR[2]، RAPD[3]، PBR[4]، DAF[5] و SSCP[6]) و غیر مبتنی بر PCR (RLGs[7]، VNTR[8] و RFLP[9]) تقسیم کرد. اساس نشانگرهای مولکولی DNA بر پایه شناسایی چندشکلی در توالی DNA است، تعدادشان نامحدود و

[1] polymerase chain reaction
[2] Simple sequence repeat
[3] Random amplification of polymorphic DNA
[4] PCR based RFLP
[5] DNA Amplification fingerprinting
[6] Single strand conformation polymorphism
[7] Restriction landmark genomic scanning
[8] Variable number of tandem repeats
[9] Restriction Fragment Length Polymorphism

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

تحت تأثیر شرایط محیطی و مراحل رشد گیاه قرار نمی‌گیرند (Feuillet and keller 2006).

ریزماهواره‌ها یا ردیف‌های تکراری ساده (SSR) قطعات کوتاهی از DNA هستند که پشت سر هم تکرار شده و از واحدهای تکراری ۶-۱ جفت‌باز تشکیل شده‌اند و حداکثر طول آن‌ها بین ۱۰۰-۶۰ جفت‌باز است (Goldstein and Pollock 1997). سطح بالای چندشکلی به‌همراه نسبت بالای پراکنش، آن را به یک نشانگر مهم تبدیل کرده است. ریزماهواره‌ها در میان انواع نشانگرهای مولکولی یکی از بزرگ‌ترین امیدهای دانشمندان برای شناسایی ژنوتیپ‌های مختلف در داخل یک گونه هستند. نحوه توارث هم‌بارز آن‌ها، سطح بالای پلی‌مورفیسم و سادگی کار باعث می‌شود که آن‌ها برای بسیاری از کاربردها مفید باشند (King et al. 1997; Kashi and Soller 1999). نشانگر ISSR (Inter simple sequence repeat) از نشانگرهای نیمه اختیاری بوده که بر اساس تکنیک RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA markers)، مکان‌های چندگانه‌ی SSR (Simple sequence repeat) را با الگوی مشابه آشکار می‌کند. آغازگرهای ISSR طوری طراحی شده‌اند که دارای قسمتی از توالی SSR و قسمتی از توالی بازهای اختیاری می‌باشد (Babaeian et al. 2006). این تکنیک روشی سریع بوده که بیشتر مزایای SSR و AFLP و جامعیت RAPD را در بردارد. ISSR چندشکلی بالایی داشته و می‌تواند برای مطالعات تنوع ژنتیکی، رده‌بندی، نشانمندکردن ژن‌ها، نقشه‌یابی ژنتیکی و زیست‌شناسی تکاملی به‌کار رود (Pradeep et al. 2002).

در بین مطالعات صورت گرفته در انواع جنس‌های خانواده Vitaceae، Dolores et al. (1998) به‌منظور مطالعه اختلاف ژنتیکی بین ارقام بسیار نزدیک انگور و Cloneهای[1] رقم Albarino از نشانگرهای ریزماهواره‌ای و RAPD استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد گروه‌بندی‌های به‌دست آمده از طریق این دو روش اندکی با همدیگر اختلاف داشتند و در نتیجه دو روش مولکولی مذکور را به‌عنوان روش‌های مناسب در تشخیص و شناسایی ارقامی با صفات و اسامی مختلف که در واقع به‌عنوان یک رقم در نظر گرفته می‌شدند، معرفی نمودند. با این تفاوت که نشانگر RAPD قادر به تفکیک کلون‌های تکثیر شده نشد؛ در حالی‌که نشانگرهای ISSR به‌راحتی توانست یکنواختی ریزازدیادی کلون‌های حاصل از پایه‌های انگور Dogridge (*Vitis champini*)، SO4 (*V. berlandieri*×*V. rupestris*) و ARI-H-144 (*V. vinifera*×*V. labrusca*) از همدیگر تفکیک نماید.

Dangle et al. (2001) برای بررسی ژنوتیپ‌های ۴۱ رقم انگور (بیدانه) موجود در چندین کلکسیون آمریکا، از ۱۱ نشانگر ریزماهواره‌ای با تنوع آللی بالا استفاده کردند. نتایج داده‌های مولکولی چندین مورد رقم مشابه ولی با نام‌های متفاوت را شناسایی نمود که گروه اول شامل ۹ رقم و گروه دوم شامل ۲۲ ژنوتیپ از روسیه و افغانستان بود که از لحاظ ظاهری بسیار شبیه به انگور بی‌دانه تامپسون سیدلس بودند. درگروه سوم ۱۱ انگور شرابی اروپایی قرار گرفتند که انگور رقم کشمشی نیز در این گروه بود (Alizadeh and Singh 2009). نتیجه بررسی Neveen et al. (2011) بر چندشکلی مورفولوژیکی و ISSR در برخی از انگورهای مصری نشان‌دهنده این واقعیت بود که این نشانگر در برآورد تکامل تنوع ژنتیکی انگور می‌تواند معیار مناسبی در تعیین رقم و مطالعه روابط فیلوژنی میان ارقام باشد.

Choudhary et al. (2014) تنوع ژنتیکی ارقام انگور هندی را با استفاده از نشانگر ISSR مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که قدرت تفکیک نشانگر ISSR در دامنه ۱۰-۳، ارزش PIC از ۰/۷۸ تا ۰/۸۸ و شاخص نشانگر از ۳/۸۹ تا ۸/۸ می‌باشد و نتیجه تحقیقات آن‌ها نشان می‌دهد که نشانگر ISSR ابزار مناسبی در تفکیک ارقام و ژنوتیپ‌های انگور می‌باشد.

با توجه به اینکه ارقام انگور روسی به تعداد ۶۹ رقم که مستقیماً توسط بخش تحقیقات باغبانی سابق مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در قالب تفاهم نامه دو جانبه مبادله مواد ژنتیکی از روسیه وارد ایران شد، به‌غیر نام رقم یا ژنوتیپ، هیچگونه اطلاعات میوه شناسی، تنوع ژنتیکی و خصوصیات باغی همراه اندام تکثیری ارائه نشد. لذا مطالعات گسترده‌ای در زمینه خصوصیات ژنتیکی و شناخت این ارقام شروع شد که تحقیق حاضر در ادامه مطالعات مذکور به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی ارقام

[1] افراد حاصل از تکثیر غیرجنسی که در طول سالیان متمادی دچار تغییرات ژنتیکی قابل مشاهده (در صفات کیفی) می‌گردند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

و ژنوتیپ‌های امید بخش انگور معرفی شده از کشور روسیه با استفاده از نشانگر مولکولی بین ریزماهواره‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی تحقیق حاضر ۶۹ رقم و ژنوتیپ انگور روسی و سه کلون انگور رقم بیدانه بود. ارقام و ژنوتیپ‌های مذکور مستقیماً از کلکسیون ملی کراسنودار کشور روسیه وارد ایران شده و پس از طی مراحل قرنطینه، وارد فاز مطالعاتی شدند (جدول ۱). استخراج DNA از برگ‌های تازه، به روش CTAB پیشنهادی (2012) Piccolo et al. انجام شد. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به‌ترتیب از دستگاه نانودراپ (Nanodrop 2000C محصول کمپانی Thermo Scientific) و الکتروفورز ژل ۱/۲ درصد استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر اساس روش Piccolo et al. (2012) انجام شد (جدول ۲). جهت بهینه‌سازی مقدار و نسبت اجزای مخلوط واکنش، مخلوط‌ها بر اساس سطوح مختلف مسترمیکس شرکت سینا کلون (غلظت 2X، ۵ میکرولیتر، غلظت نهایی 1X)، پرایمر (غلظت اولیه ۵ میکرومولار، ۱/۵ میکرولیتر، ۰/۱۸ غلظت نهایی میکرومولار)، آب (۲ میکرولیتر) و DNA الگو (غلظت اولیه ۴۰ نانوگرم، ۱/۵ میکرولیتر، غلظت نهایی ۶ نانوگرم) به حجم نهایی واکنش ۱۰ میکرولیتر آزمون شدند. روغن معدنی به حجم ۵ میکرولیتر برای جلوگیری از تبخیر استفاده شد. توالی و مشخصات آغازگرهای مورد استفاده ISSR (محصول Bio-NEER شرکت Takapouzist) و دمای مناسب واکنش PCR در جدول ۳ آورده شده است. محصول نهایی PCR بر روی ژل آگارز ۱/۳ درصد، با ولتاژ ۹۰ ولت به‌مدت ۲ ساعت الکتروفورز شدند. برای رؤیت نوارهای اسیدهای نوکلئیک تحت نور فرابنفش از اتیدیوم بروماید استفاده شد.

جدول ۱- فهرست ارقام و ژنوتیپ‌های انگور وارد شده از کشور روسیه

کد	نام رقم	کد	نام رقم	کد	نام رقم
۱	Yoski Biser	۲۴	Vazturk	۴۷	Yaloski Staloy
۲	Aligoneh	۲۵	Kezhoski Ramphi	۴۸	Belgradeski Ramphi
۳	Ramphi TCXA	۲۶	Muscat Ramphi	۴۹	Kara Palvan
۴	X46	۲۷	New Ukranski Ramphi	۵۰	Babo Zakir
۵	Qazagiski Ramphi	۲۸	Kishmish Hisrao	۵۱	Kishmish Luchistyi
۶	Supran Bulgar	۲۹	Agadoski	۵۲	Kizil Guchistyi
۷	Muscat Uzbakistan	۳۰	Euloski	۵۳	Muromts
۸	Bobili Magaracha	۳۱	Malinger Ramphi	۵۴	Tchol Yaprak
۹	Bli Ramphi	۳۲	Ramphi Vir	۵۵	Moukhtchaloni
۱۰	Skiph	۳۳	Shaomiani	۵۶	Kishmish Zrtysar
۱۱	Tambogeski Ramphi	۳۴	Besmiamphi Ramphi	۵۷	Volgo Don
۱۲	Ramphi Izdangareh	۳۵	Tamphi Rozoy	۵۸	Italia
۱۳	Muscat Yamtazini	۳۶	Voromonk	۵۹	Binam
۱۴	Epozoski Ramphi	۳۷	Dedeski Ramphi	۶۰	Angur Siekh Shaartuski
۱۵	Muscat Ruskuvi	۳۸	Muscat Bli	۶۱	Ranii Vira
۱۶	Kishmish Ramphi Azos	۳۹	No.48	۶۲	Bogatyur
۱۷	Ukranski Ramphi	۴۰	Ruski Ramphi	۶۳	Tuy Tish Ganchinskii
۱۸	Negrod Yalon	۴۱	No.47	۶۴	Druzhba
۱۹	X45	۴۲	Kiberaski Ramphi	۶۵	Moldoua
۲۰	Anapiski Ramphi	۴۳	Rizatmat	۶۶	Ljana
۲۱	Moros	۴۴	Madlen Anzhenin	۶۷	Goudovng Pendji Kentsky
۲۲	Globack	۴۵	Zenbil 13-366	۶۸	Noulizok
۲۳	Yaloski Ostochio	۴۶	Aqustroski	۶۹	Tchol Ousum

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۲- مراحل واکنش دما و دوره‌های زمانی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با انتخاب دمای اتصال

مرحله واکنش	دما (درجه سلسیوس)	زمان	تکرار
واسرشت‌سازی اولیه DNA	۹۴	۶ دقیقه	یک بار
واسرشت سازی DNA	۹۴	۵ ثانیه	۴۰ بار
اتصال آغازگر	۴۵-۵۲	۵۰ ثانیه	۴۰ بار
بسط آغازگر	۷۲	۱۲۰ ثانیه	۴۰ بار
بسط نهایی	۷۲	۴ دقیقه	یک بار

جدول ۳- ویژگی‌های نشانگرهای ISSR مورد استفاده

شماره	نام آغاز گر	توالی ′۳-′۵
۱	UBC-815	5′ ctctctctctctctg 3′
۲	UBC-817	5′ cacacacacacacaa 3′
۳	UBC-823	5′ tctctctctctctcc 3′
۴	UBC-825	5′ acacacacacacact 3′
۵	UBC-826	5′ acacacacacacacc 3′
۶	UBC-834	5′ agagagagagagagagtt 3′
۷	UBC-841	5′ gagagagagagagaga yc3′
۸	UBC-846	5′ cacacacacacaca rt3′
۹	UBC-849	5′ gtgtgtgtgtgtgtya3′
۱۰	UBC-850	5′ gtgtgtgtgtgtgttyc3′
۱۱	UBC-855	5′ acacacacacacacyt3′
۱۲	UBC-856	5′ ggagaggagaggaga 3′
۱۳	UBC-873	5′ gacagacagacagaca 3′
۱۴	UBC-877	5′dvdtctctctctctctc 3′
۱۵	UBC-889	5′dbdacacacacacacac 3′

در این آزمایش از سایز مارکر DNA، ۱۵۰۰-۵۰ جفت‌بازی (50bp DNA Ladder محصول شرکت سینا کلون) استفاده شد. برای تبدیل نتایج کیفی الکتروفورز به داده‌های کمی، برای وجود یا عدم وجود نوار در یک جایگاه به‌ترتیب عدد یک و صفر در نظر گرفته شد.

به‌منظور بررسی کارایی آغازگرها در تشخیص تنوع بین ژنوتیپ‌ها از شاخص‌های ملکولی درصد چندشکلی، شاخص محتوای چند شکلی (Polymorphic information content)، شاخص نشانگر (Marker Index)، شاخص Effective Multiplex Ratio و قدرت تفکیک (Resolving Power) استفاده شد. برای محاسبه درصد چندشکلی، تعداد نوارهای چند شکل بر تعداد کل نوارها تقسیم شد (Mohammadi and Prasanna 2003). شاخص محتوای چند شکلی با استفاده از رابطه $PIC= 1-\sum Pi^2$ محاسبه شد که در اینجا p برابر با مجموع نوارهای هر مکان ژنی برای کلیه ژنوتیپ‌ها است (Mohammadi and Prasanna 2003). برای محاسبه شاخص نشانگر تعداد نوارهای چندشکل در شاخص محتوای چندشکلی ضرب شد (Kumar et al. 2009). شاخص EMR از ضرب درصد چندشکلی در تعداد نوارهای چندشکل به‌دست آمد (Kumar et al. 2009). برای محاسبه قدرت تفکیک از رابطه $RP=\sum IB$ استفاده شد که در آن $IB=1-[2\times(0.5-Pi)]$ و Pi نسبت افراد دارای نوار است (Altıntas et al. 2008).

تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر مبنای ضریب تشابه جاکارد بر اساس ماتریس صفر و یک حاصل از نشانگرهای ISSR، به‌دلیل ارائه دندروگرام مناسب (بدون وجود زنجیره‌ای شدن)، همبستگی کوفنتیک بالاتر و همراه با صفات فیزیولوژیک (عملکرد بر حسب گرم در تاک، تعداد خوشه در تاک، متوسط تعداد حبه در خوشه و متوسط وزن حبه به گرم) مورد استفاده قرار گرفت. از تابع تشخیص خطی جهت تعیین صحت گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌ها استفاده شد. جهت انجام محاسبات

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

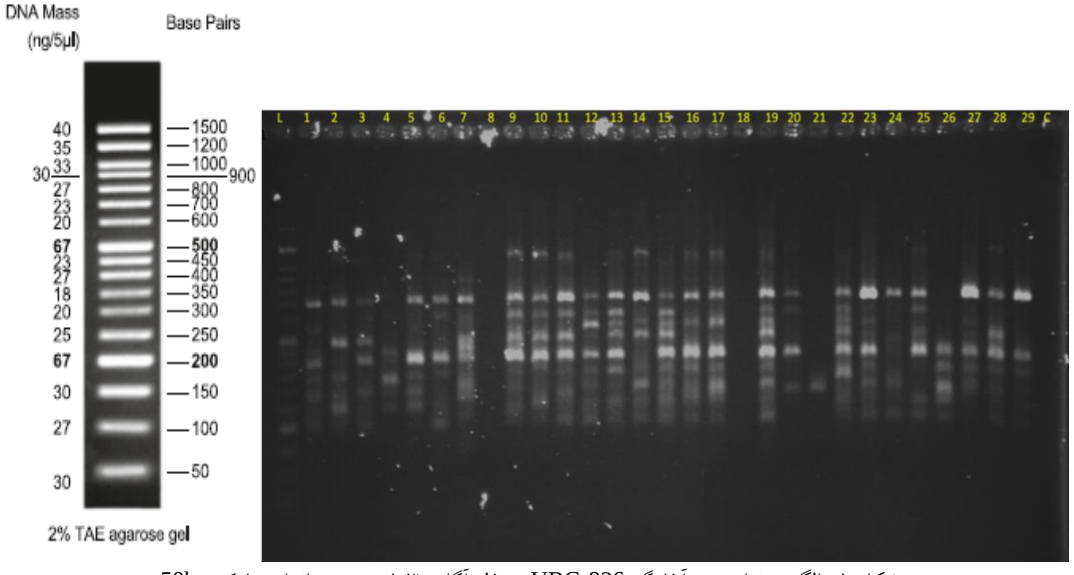
از نرم‌افزار رایانه‌ای GenAlex، NTSYS و SPSS ver.21 استفاده شد.

نتایج

در این آزمایش تعداد ۱۵ آغازگر مورد استفاده قرار گرفت که از این تعداد، ۲ آغازگر UBC-815 و UBC-834 نوارهای واضح و قابل امتیازی نداشتند (شکل ۱) و برای ۱۳ آغازگر برای نشانگر ISSR در همه ژنوتیپ‌ها تکثیر انجام شد که نتایج آن به‌طور خلاصه در جدول ۴ آورده شده است. تعدادکل نوارها ۷۳ عدد بود؛ که ۶۴ نوار چندشکل بودند و درصد چندشکلی کل ۸۸/۱٪ برآورد شد. اندازه نوارها بین ۱۰۰ تا ۱۵۰۰ جفت‌باز متغیر بودند. آغازگرهای UBC-823، UBC-825، UBC-841، UBC-846، UBC-855 و UBC-873 دارای صددرصد چند شکلی بودند که کمترین میزان چند شکلی (۶۶/۷ درصد) به آغازگر UBC-817 تعلق داشت. متوسط تعداد کل نوارها و متوسط چندشکلی به‌ترتیب برابر با ۵/۶۱ و ۴/۹۲ بود. بیشترین و کمترین شاخص محتوای چندشکلی به‌ترتیب مربوط به آغازگرUBC-825 و UBC-856 برابر با ۰/۴۸۷ و ۰/۲۱۶ بود. در بین شاخص‌های مولکولی مورد بررسی، بیشترین و کمترین شاخص نشانگر به‌ترتیب متعلق به آغازگر UBC-889 و UBC-817 برابر با ۲/۷۱۸ و ۰/۹۰۴ بود.

بیشترین و کمترین شاخص EMR به‌ترتیب مربوط به آغازگر UBC-841 و UBC-817 برابر با ۷ و ۱/۳۳ به‌دست آمد. در شاخص RP نیز بیشترین و کمترین مقدار به‌ترتیب متعلق به آغازگرهای UBC-877 و UBC-856 برابر با ۸/۱۱ و ۱/۷۵ بود (جدول ۴). از مقایسه نتایج حاصل از روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای و ضرایب تشابه مختلف، در نهایت تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر مبنای ضریب تشابه جاکارد به‌دلیل ارائه دندروگرام مناسب (بدون وجود زنجیره‌ای شدن) و همبستگی کوفنتیک بالاتر انتخاب شد که منجر به طبقه‌بندی ۷۲ رقم انگور با مقدار تشابه بین ۰/۸۹-۰/۱۲ در ۷ گروه متفاوت شد، به‌طوری که گروه‌های تشکیل شده به‌ترتیب شامل ۱۴، ۶، ۱۱، ۱۲، ۱۱، ۶ و ۱۲ رقم بودند (شکل ۲، جدول ۵). ضریب همبستگی کوفنتیک بین ماتریس تشابه (ماتریس ورودی) حاصل از ضریب جاکارد و ماتریس خروجی حاصل از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۰/۹۲۶ بود.

مقدار بالای ضریب همبستگی کوفنتیک نشان داد که تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد بر اساس داده‌های به‌دست آمده از نشانگرهای ISSR در گروه‌بندی ارقام انگور مورد بررسی بسیار مناسب بود.



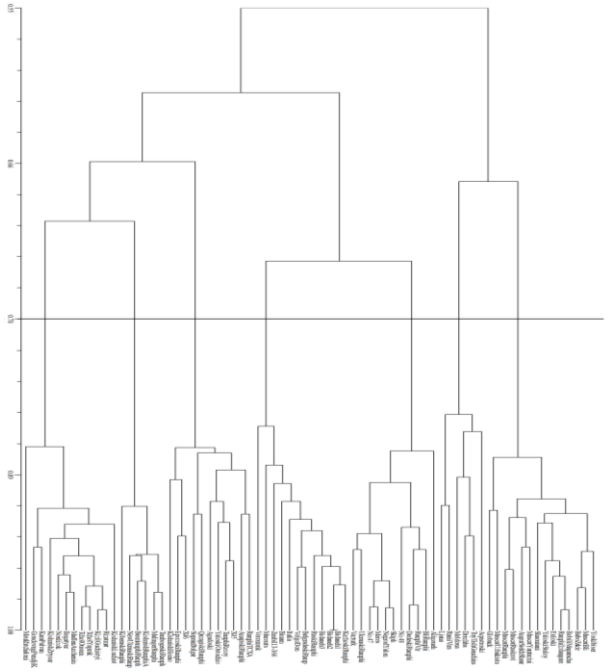
شکل ۱- الگوی نواربندی آغازگر UBC-826 در ژل آگارز ۱/۳ درصد و اندازه مارکر 50bp

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۴- نام، توالی، دمای اتصال، تعداد کل باندها، تعداد باند چندشکلی و شاخص‌های ملکولی حاصل از بررسی ۷۲ رقم و ژنوتیپ انگور با استفاده از نشانگر ISSR

آغازگر	توالی '۳-'۵	دمای (C^o) PCR	تعداد کل نوارها	تعداد نوار چند شکل	درصد چند شکلی	شاخص محتوای چندشکلی	شاخص نشانگر	شاخص EMR	شاخص RP
UBC-817	$(ca)^8a$	۴۶	۳	۲	۶۶/۷	۰/۴۲۵	۰/۹۰۴	۱/۳۳	۳/۷۵
UBC-823	$(tc)^8c$	۵۱	۴	۴	۱۰۰	۰/۴۳۲	۱/۷۲۸	۴	۵/۱
UBC-825	$(ac)^8t$	۵۰	۴	۴	۱۰۰	۰/۴۸۷	۱/۹۴۸	۴	۴/۱
UBC-826	$(ac)^8c$	۴۹	۸	۶	۷۵	۰/۲۶۵	۱/۵۹	۴/۵	۳/۳۹
UBC-841	$(ga)^8yc$	۵۰	۷	۷	۱۰۰	۰/۲۴۲	۱/۶۹۴	۷	۲
UBC-846	$(ca)^8rt$	۵۲	۴	۴	۱۰۰	۰/۴۶	۱/۸۴	۴	۴/۴۴
UBC-849	$(gt)^8ya$	۴۹	۵	۴	۸۰	۰/۴۴۱	۱/۷۴۶	۳/۲	۶/۳
UBC-850	$(gt)^8tyc$	۴۵	۶	۵	۸۳/۳	۰/۴۶۲	۲/۳۱	۴/۱۶	۶/۱
UBC-855	$(ac)^8yt$	۵۱	۶	۶	۱۰۰	۰/۳۹۸	۲/۳۸۸	۶	۷/۱
UBC-856	$(ggaga)^3$	۴۹	۷	۵	۷۱/۴	۰/۲۱۶	۱/۰۸	۳/۵۷	۱/۷۵
UBC-873	$(gaca)^4$	۴۷	۶	۶	۱۰۰	۰/۴۰۴	۲/۴۲۴	۶	۷/۰۱
UBC-877	$dvd(tc)^7$	۵۱	۶	۵	۸۳/۳	۰/۴۰۳	۲/۰۱۵	۴/۲	۸/۱۱
UBC-889	$dbd(ac)^7$	۴۹	۷	۶	۸۵/۷	۰/۴۵۳	۲/۷۱۸	۵/۱۴	۷/۷۸

r = (a,g); y = (c,t); b = (c,g,t); d = (a,g,t); h = (a,c,t); v = (a,c,g)



شکل ۲- دندروگرام ارقام انگور مورد مطالعه به روش UPGMA بر مبنای ضریب تشابه جاکارد و ضریب کوفنتیک ۰/۹۲۶ بر اساس نشانگر ISSR

جدول ۵- میانگین اجزاء عملکرد گروه‌ها بر اساس نشانگر مولکولی ISSR

کلاستر	رقم	عملکرد (گرم در تاک)	تعداد خوشه در تاک	تعداد حبه در خوشه	متوسط وزن حبه (گرم)
۱	Yoski biser، Muscat Bli، Babo Zakir، Bobili Magaracha، Ramphi Izdangareh، Euloski Ostochio، Yaloski Shaomiani، Muscat Yamtazini، Siekh Angur، Shaartuski، Muscat Ruskuvi، Muscat Ramphi، Muscat Uzbakistan و Globack	۱۳۸۱۷/۹۷	۳۴	۸۷	۲/۳۶
۲	Aqustroski، Tuy Tish Ganchinskii، Druzhba، Moldoua، Ranii Vira، Ljana	۱۱۵۳۰/۹۵	۲۳	۶۴	۳/۸۴
۳	Aligoneh، Bli Ramphi، RamphiVir، Dedeski Ramphi، No.48، Skiph، Negrod Yalon، Moros، No.47، Ukranski Ramphi، Vazturk	۱۵۳۰۸/۸۱	۳۱	۱۰۹	۲/۷۷
۴	Belgradeski Ramphi، Bidaneh1، Bidaneh2، Bidaneh3، Binam، Italia، Kezhoski	۱۴۵۷۲/۹۲	۲۹	۸۷	۲/۸۲

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

	Zenbil13-366، Voromonk، Volgo Don، Ruski Ramphi، Muromts، Ramphi				
۵	Yaloski Staloy، Tamphi Rozoy، X45،Anapiski Ramphi، Ramphi TCXA، Epozoski Ramphi، X46، Supran Bulgar، Qazagiski Ramphi، Agadoski kishmish Hisrao	۱۳۱۹۵/۴۱	۳۴	۱۰۱	۱/۹
۶	Besmiamphi، Kishmish Ramphi Azos، Malinger Ramphi، Tambogeski Ramphi Kiberaski Ramphi، New Ukranski Ramphi، Ramphi	۱۴۷۸۷/۵۶	۲۵	۱۱۵	۲/۸۹
۷	Tchol Ousum، Tchol Yaprak، Kizil Guchistyi، Rizatmat، Kishmish Luchistyi، Kara Palvan، Kishmish Zrtysar، Noulizok، Bogatyur، Madlen Anzhenin Moukhtchaloni، Goudovng Pendji Kentsky	۱۱۳۳۴/۷۹	۲۳	۹۵	۳/۷۶

جدول ۶- میزان صحت گروه‌بندی و تعداد انتساب ژنوتیپ‌ها در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر ISSR با تجزیه تابع تشخیص

گروه	تعداد ژنوتیپ	گروه						
		۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱	۱۴	۱۳	۰	۰	۰	۰	۱	۰
درصد انتساب		۹۲/۹	۰	۰	۰	۰	۷/۱	۰
۲	۶	۱	۵	۰	۰	۰	۰	۰
درصد انتساب		۱۶/۷	۸۳/۳	۰	۰	۰	۰	۰
۳	۱۱	۰	۰	۸	۱	۰	۱	۱
درصد انتساب		۰	۰	۷۲/۷	۹/۱	۰	۹/۱	۹/۱
۴	۱۲	۲	۰	۰	۱۰	۰	۰	۰
درصد انتساب		۱۶/۷	۰	۰	۸۳/۳	۰	۰	۰
۵	۱۱	۱	۰	۰	۰	۱۰	۰	۱
درصد انتساب		۹/۱	۰	۰	۰	۸۱/۸	۰	۹/۱
۶	۶	۱	۰	۰	۰	۰	۴	۱
درصد انتساب		۱۶/۷	۰	۰	۰	۰	۶۶/۷	۱۶/۷
۷	۱۲	۰	۲	۱	۰	۰	۰	۹
درصد انتساب		۰	۱۶/۷	۸/۳	۰	۰	۰	۷۵

درصد گروه‌بندی صحیح ارقام: ۸۰/۶ درصد

تعیین دقیق گروه‌ها و مقایسه دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از تجزیه تابع تشخیص خطی فیشر حاکی از آن بود که معیار تشابه جاکارد با استفاده از داده‌های به‌دست آمده از نشانگر ISSR با روش UPGMA توانست ارقام را با احتمال صحت ۸۰/۶ درصد (یا ۱۹/۴ درصد اشتباه) گروه‌بندی نماید و تفاوت بین ارقام را نشان دهد (جدول ۶). نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص نشان داد که صحت انتساب در گروه اول ۹۲/۹ درصد بوده و ۱۳ رقم از ۱۴ رقم بدرستی در گروه اول قرار گرفته بود. این اشتباه مربوط به رقم Euloski بود که بر اساس تابع تشخیص جایگاه دقیق این رقم در گروه ششم بود. صحت انتساب در گروه دوم ۸۳/۳ درصد بوده و ۵ رقم از ۶ رقم بدرستی در گروه دوم قرار گرفته بودند.

این اشتباه مربوط به رقم Ljana بود که بر اساس تابع تشخیص جایگاه دقیق این رقم در گروه اول بود. صحت انتساب در گروه سوم ۷۲/۷ درصد بوده و ۸ رقم از ۱۱ رقم بدرستی در گروه سوم قرار گرفته بودند و یک رقم (۹/۱ درصد) به گروه ۴، یک رقم (۹/۱ درصد) به گروه ۶ و یک رقم (۹/۱ درصد) به گروه ۷ تعلق داشت. این اشتباه مربوط به ارقام Vazturk، No.48 و Ukranski Ramphi بود که بر اساس تابع تشخیص جایگاه دقیق آن‌ها به‌ترتیب گروه چهارم، ششم و هفتم بود. صحت انتساب در گروه چهارم ۸۳/۳ درصد بوده و ۱۰ رقم از ۱۲ رقم بدرستی در گروه چهارم قرار گرفته بودند و دو رقم (۱۶/۷ درصد) به این گروه تعلق نداشت. این اشتباه مربوط به ارقام Zenbil13-366 و Binam بود که بر اساس تابع تشخیص جایگاه دقیق آن‌ها گروه اول بود. صحت انتساب در گروه پنجم ۸۱/۸ درصد بوده و ۹ رقم از ۱۱

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

رقم بدرستی در گروه پنجم قرار گرفته بودند و دو رقم (۱۸/۲ درصد) به این گروه تعلق نداشتند. این اشتباه مربوط به ارقام Kishmish Hisrao و Tamphi Rozoy بود که بر اساس تابع تشخیص جایگاه دقیق آن‌ها به‌ترتیب در گروه اول و هفتم بود. صحت انتساب در گروه ششم ۶۶/۷ درصد بوده و ۴ رقم از ۶ رقم بدرستی در گروه ششم قرار گرفته بودند و دو رقم (۳۳/۳ درصد) به این گروه تعلق نداشت. این اشتباه مربوط به ارقام Kiberaski Ramphi و Malinger Ramphi بود که بر اساس تابع تشخیص جایگاه دقیق آن‌ها به‌ترتیب در گروه اول و هفتم بود. صحت انتساب در گروه هفتم ۷۵ درصد بوده و ۹ رقم از ۱۲ رقم بدرستی در گروه هفتم قرار گرفته بودند و سه رقم (۲۵ درصد) به این گروه تعلق نداشت. این اشتباه مربوط به ارقام Madlen Anzhenin، Kishmish Zrtysar و Bogatyur بود که بر اساس تابع تشخیص جایگاه دقیق رقم Madlen Anzhenin در گروه سوم و ارقام Kishmish Zrtysar و Bogatyur در گروه دوم بود. درجدول ۷ مقادیر ویژه و درصد واریانس برای توابع تشخیص خطی در گروه‌بندی بر اساس نشانگر ISSR و همچنین مقادیر لامبدای ویلکس آورده شده است. شش تابع ۱۰۰ درصد تغییرات بین گروه‌ها را نشان داده و قادر به تفکیک گروه‌ها بودند. تابع اول دارای حداقل لامبدا و معنی‌دار بوده که نسبت به سایر توابع تشخیص خطی از صحت تفکیک‌کنندگی بالاتری برخوردار بود. میزان همبستگی برآورد شده بین ماتریس تشابه حاصل از داده‌های مارکر ISSR با ماتریس تشابه حاصل از صفات فیزیولوژیک از طریق آزمون مانتل بسیار پایین و غیرمعنی‌دار بود (r= ۰/۴۲) که نشان‌دهنده تأثیر بالای تغییرات محیطی بر اجزای عملکرد بود. (جدول ۷).

بحث

انگور (*V. vinifera*) به‌دلیل تنوع ژنتیکی گسترده، دارای ارقام متنوعی است (Santos et al. 2013)؛ بنابراین تعیین تنوع ژنتیکی و شناسایی صحیح ارقام و ژنوتیپ‌های آن برای برنامه‌های بعدی به‌نژادی و جمع‌آوری و حفظ ژرم پلاسم از اهمیت بالایی برخوردار است (Jing et al. 2013). در تحقیق حاضر تعداد ۱۵ آغازگر ISSR مورد استفاده قرار گرفت. بیشتر محققین بر این باورند که حداقل تعداد ۵ آغازگر ISSR برای ایجاد نیمرخ تشخیصی و انگشت نگاری بین ارقام و ژنوتیپ‌های انگور نیاز است (Wang et al. 1994; Moreno et al. 1998) که آغازگر UBC-815 و UBC-834 به‌علت عدم نوارهای واضح و قابل امتیازدهی از مطالعه خارج شدند. Reddy et al. (2002) و Herrera et al. (2002) گزارش نمودند که برخی از آغازگرها در تشخیص یک مکان مکمل در ژنوم گیاه کارآمدتر بودند. در تحقیق Basheer-Salimia & Mujahed (2019) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انگور در فلسطین با استفاده از ۲۰ آغازگر ISSR، دو آغازگر به‌علت عدم ایجاد باند از ادامه مطالعه خارج نمودند. همچنین Najafi et al. (2006) از ۱۲ نشانگر ریزماهواره‌ای برای بررسی تنوع ژنتیکی ۱۳۶ رقم انگور ایرانی و ۳۶ رقم انگور اروپایی استفاده نمودند؛ بنابراین تعداد آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر کافی بوده و تغییرات مشاهده شده توانایی لازم را در نشان دادن میزان تنوع ژنتیکی داشت.

در تحقیق حاضر آغازگرهای UBC-823، UBC-825، UBC-841، UBC-846، UBC-855 و UBC-873 دارای ۱۰۰ درصد چند شکلی بودند که نشان‌دهنده وجود فراوانی بالای توالی‌های ac، ca، ga و tc در ژنوم ارقام انگور مورد بررسی بود. کمترین میزان چند شکلی (۶۶/۷ درصد) نیز به آغازگر UBC-817 تعلق داشت. Scott et al. (2000) در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انگور از نظر تنوع در نشانگرهای ریزماهواره‌ای به این نتیجه رسیدند که ریزماهواره‌های (GT)n، (GA)n، (CAC)n، (CACA)n و (GATA)n بیشترین فراوانی را در ژنوم انگور داشتند که با نتیجه تحقیق حاضر همسو بود. در تحقیق Basheer-Salimia (2019) and Mujahed نیز آغازگرهای ISSR با توالی GA، AC، AG، GT و CA؛ ۱۰۰ درصد چند شکلی نشان دادند. همین امر در مورد تعداد متوسط نوارها در آغازگر صادق بود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۷- مقادیر ویژه و درصد واریانس برای توابع تشخیص خطی در گروه‌بندی بر اساس نشانگر ISSR

تابع	واریانس مشترک	درصد واریانس	درصد تجمعی	همبستگی کانونی	لامبدای ویلکس
۱	۳/۶۷۸	۴۴/۳	۴۴/۳	۰/۸۸۷	۰/۰۱**
۲	۱/۸۲۲	۲۲	۶۶/۳	۰/۸۰۴	۰/۰۴۶
۳	۱/۱۲۱	۱۳/۵	۷۹/۸	۰/۷۲۷	۰/۱۲۹
۴	۰/۸۳۱	۱۰	۸۹/۸	۰/۶۷۴	۰/۲۷۴
۵	۰/۵۸۶	۷/۱	۹۶/۸	۰/۶۰۸	۰/۵۰۱
۶	۰/۲۵۹	۳/۲	۱۰۰	۰/۴۵۳	۰/۷۹۴

همچنین در تحقیق Thomas et al. (1993) و Dhanorkar et al. (2005) به‌ترتیب توالی ga و ac بیشترین توالی نوکلئوتیدی آغازگرهای ISSR در بررسی تنوع ژنتیکی انگور گزارش شده بود. Martinez et al. (2006) از شش جایگاه ریزماهواره برای بررسی تغییرات ژنتیکی و روابط بین ارقام بومی گونه وینیفرا در پرو و آرژانتین استفاده کردند. آن‌ها نشان دادند که تعداد الل از ۶ تا ۱۳ آلل در هر جایگاه متغیر بود. در برخی از ارقام در تعدادی از جایگاه‌ها سه الل تکثیر شد. تجزیه توالی این الل‌ها نشان داد که تغییرات در تعداد تکرارها، حذف و اضافه شدن نوکلئوتیدها در جایگاه‌های ریزماهواره‌ای عامل ایجاد چند شکلی است.

در تحقیق حاضر میزان درصد چندشکلی (۸۸/۱ درصد) نسبتاً بالا بود. این مقدار از درصد چندشکلی گزارش شده توسط Moreno et al. 1998، Sabir et al. (2009) و Dhanorkar et al. (2005) بالاتر بود. این اختلاف را می‌توان به پیش انتخاب آغازگرها در تحقیق حاضر برای توانایی آن‌ها در ایجاد الگوهای باند شفاف و چند شکل و یا تفاوت‌های درون ژنوتیپی نسبت داد.

اندازه نوارها در تحقیق حاضر بین ۱۰۰ تا ۱۵۰۰ جفت‌باز متغیر بودند. در تحقیق Dhanorkar et al. (2005) اندازه نوارها در ارقام انگور هندی ۱۵۰۰-۳۰۰ جفت باز بود که تا حدودی با نتیجه تحقیق حاضر همسو بود ولی در تحقیق Basheer-Salimia and Mujahed (2019) طول نوارهای ارقام فلسطین ۹۰۰-۳۰۰ جفت‌باز بود که با تحقیق حاضر همسو نبود. همچنین در تحقیق Sabir et al. (2009) طول نوارهای به‌دست آمده (۲۵۰۰-۳۰۰ جفت‌باز) از ارقام انگور ترکیه بسیار بلندتر بودند. این امر نشان‌دهنده تنوع محلی موجود در ارقام مورد بررسی بوده و کمتر توسط ارقام سایر کشورهای آسیایی در ایجاد تلاقی و تنوع ژنتیکی شرکت داده شده‌اند.

در مطالعات تنوع ژنتیکی با توجه به اینکه تعداد باندهای تکثیرشده توسط آغازگر می‌تواند دلیل مناسب بودن آن برای ارزیابی تنوع ژنتیکی باشد، بر اساس محاسبه محتوای اطلاعات چندشکلی که یک شاخص مهم برای مقایسه نشانگرهای مختلف از نظر قدرت تمایز است و نیز بر اساس شاخص نشانگر، آغازگرهای UBC-855 و UBC-873 با داشتن بالاترین میزان شاخص نشانگر به‌ترتیب ۲/۳۸۸ و ۲/۴۲۴ نشان‌دهنده کارایی بالا و قدرت تفکیک‌کنندگی بهتر جمعیت‌ها توسط این آغازگرها در بررسی تفاوت‌های ژنتیکی می‌باشند. با توجه به اینکه شاخص نشانگری به‌عنوان یک مقیاس برای کارایی آغازگر در نظر گرفته می‌شود (Tagizad et al. 2010) می‌توان آغازگرهای UBC-855 و UBC-873 را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در ارقام و ژنوتیپ‌های انگور گونه *V. vinifera* درنظر گرفت. نشانگرهای ریزماهواره‌ای به‌منظور آمپلوگرافی ارقام انگور و شناسایی ارقام هم‌نام و مترادف استفاده شده و مشاهده شده است که نشانگرهای ریزماهواره‌ای قادر به تفکیک و گروه‌بندی ارقام بر اساس جمعیت از پیش تعیین شده بودند (Dangle et al. 2001; Crespan and Milani 2001; Najafi et al. 2006; Martinez et al. 2006).

در تحقیق حاضر مقدار بالای ضریب همبستگی کوفنتیک نشان داد که تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد بر اساس داده‌های به‌دست آمده از نشانگرهای ISSR در گروه‌بندی ارقام انگور مورد بررسی بسیار مناسب بود. ارقام ایرانی بیدانه مورد بررسی در تحقیق حاضر به‌همراه ۹ رقم و ژنوتیپ در گروه ۴ قرار گرفتند. Najafi et al. (2006) با بکارگیری ۱۲ نشانگر ریزماهواره‌ای تنوع ژنتیکی ۱۳۶ رقم انگور مناطق مختلف ایران را همراه با ۳۶ رقم انگور اروپایی مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه آن‌ها تجزیه واریانس مولکولی اختلاف معنی‌داری را از نظر میزان

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

تنوع ژنتیکی بین انگورهای نواحی مختلف ایران نشان داد. ولی تفاوت معنی‌داری بین ارقام ایرانی و اروپائی مشاهده نشد که با نتیجه تحقیق حاضر همسو بود. زینلی و همکاران (۲۰۱۲) نیز تنوع ژنتیکی ۲۰ رقم انگور استان آذربایجان غربی با استفاده از نشانگرهای مرفولوژیک و مولکولی ISSR مورد ارزیابی قرار دادند. تجزیه خوشه‌ای داده‌ها، ۶ گروه مجزا را نشان دادند. در بررسی مرفولوژیک، ۲۶ صفت مورد ارزیابی قرار گرفت و ضریب تشابه جاکارد بین ۰/۵۲ تا ۰/۸۱ بدست آمد. حداقل فاصله ژنتیکی بین ارقام بی‌دانه به‌دست آمد. Sabir et al. (2009) آمپلوگرافی و تنوع ژنتیکی ۴۴ کولتیوار انگور با استفاده از صفات مرفولوژیک IBPGR و نشانگر مولکولی ISSR مورد ارزیابی قرار دادند. تعداد ۲۰ آغازگر ISSR درمجموع ۱۵۷ نوار ایجاد نمودند که ۱۴۰ نوار آن چند شکلی بودند. دندروگرام حاصل از صفات مرفولوژیک و نشانگر دارای شباهت زیادی بودند. به‌طور کلی امروزه استفاده از نشانگرهای مولکولی منجر به افزایش سرعت و دقت برنامه‌های اصلاحی شده است (Haddadinejad et al. 2009). این نتایج نشان داد که مارکرهای ISSR دارای پتانسیل و توانایی در شناسایی و متمایز نمودن ارقام دارند.

در تحقیق حاضر میزان همبستگی برآورد شده بین ماتریس تشابه حاصل از داده‌های مارکر ISSR با ماتریس تشابه حاصل از صفات فیزیولوژیک از طریق آزمون مانتل بسیار پایین و غیرمعنی‌دار بود (r= ۰/۴۲). که نشان‌دهنده تطابق پایین میزان تشابه ارقام به وسیله داده‌های فیزیولوژیک و مولکولی بود. شاید یکی از دلایل مهم آن پایین بودن تعداد صفات به‌کار رفته در برآورد شاخص‌ها باشد. خطای نمونه‌برداری، تأثیرپذیری بیشتر در اثر تغییرات محیطی، پلی ژنیک بودن این صفات و پایین بودن قابلیت ظهور فنوتیپ در ارقام مختلف می‌تواند دلیلی بر پایین بودن میزان همبستگی بین مارهای مولکولی و فیزیولوژیکی در لاین‌های مورد بررسی باشد. علت اصلی در تطابق گروه‌بندی بر اساس صفات مرفولوژیک IBPGR و نشانگر مولکولی ISSR، مونوژنیک و الیگوژنیک بودن نشانگرهای مرفولوژیک IBPGR بوده که چندان تحت تأثیر تغییرات محیطی قرار نمی‌گیرند ولی این صفات نقش اساسی در تعیین عملکرد ارقام و ژنوتیپ‌ها ندارند. بر این اساس در تحقیق حاضر از صفات فیزیولوژیک مرتبط با اجزاء عملکرد همراه با نشانگر مولکولی ISSR جهت گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌ها استفاده شد تا قابلیت تفکیک نشانگر مولکولی ISSR مطابق با علمکرد و اجزاء آن صورت گیرد. با توجه به اینکه این صفات پلی‌ژنیک بوده و به مقدار زیادی تحت تأثیر تغییرات عوامل محیطی قرار می‌گیرند (Rasoli 2016) به همان میزان همبستگی برآورد شده بین ماتریس تشابه حاصل از داده‌های مارکر ISSR با ماتریس تشابه حاصل از صفات فیزیولوژیک از طریق آزمون مانتل پایین خواهد بود.

نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر تنوع بالایی در میان ارقام انگور مورد مطالعه مشاهده شد. از آنجائی که نشانگر مولکولی ISSR به‌خوبی توانست ارقام مختلف را در گروه‌های مجزا قرار داده و از همدیگر تفکیک نماید، لذا می‌توان گفت که نشانگرهای ISSR یک سیستم نشانگری کارآمد و قابل اطمینان برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی ارقام انگور است. در این راستا آغازگرهای UBC-855 و UBC-873 از کارایی بالاتری در بررسی تفاوت‌های ژنتیکی برخوردار بودند. قرابت ژنتیکی ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی با ارقام ایرانی و تنوع مشاهده شده نشان‌دهنده این است که ارقام انگور مورد بررسی دارای منشاء متفاوتی بوده و منحصراً از کشور روسیه نیست و به احتمال زیاد از سایر کشورهای همجوار اروپایی و آسیایی وارد روسیه شده‌اند که این امر نیاز به بررسی بیشتری دارد.

منابع

Alizadeh M, Singh SK (2009) Molecular assessment of clonal fidelity in micropropagated grape (*Vitis* spp.) rootstock genotypes using RAPD and ISSR markers. Iranian Journal of Biotechnology 7:37-45.

Altıntas S, Toklu F, Kafkas S, Kilian B, Brandolini A, Zkan HO (2008) Estimating genetic diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL markers. Plant Breeding. 127:9-14.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Babaeian Gelodar NA, Kkavand M, Qahramani F, Khademian R (2006) Molecular markers in plant genetics and biotechnology. Mazandaran University Press 77-76. (In Farsi).

Beibei L, Xiucai F, Ying Z, Chonghuai L, Jianfu J (2021) Genetic diversity and population structure analysis of Chinese wild grape using simple sequence repeat markers. J Amer Soc Hort Sci 146:158 168.

Choudhary RS, Zagademaboodurrahman VS, Khalakar GD, Singh NK (2014) ISSR based genotypic differentiation of grape (*Vitis vinifera* L.). The Bioscan 9:823-828.

Crespan M, Milani N (2001) The Muscats: A molecular analysis of synonyms, homonyms and genetic relationship within a large family of grapevine cultivars. Vitis 40: 23-30.

Dangle GS, Mendum ML, Prins BH, Walker MA, Simon CJ (2001) Simple sequence repeat analysis of a clonally propagated species: A tool for managing a grape germplasm collection. Genome 44:432-438.

Dhanorkar VM, Tamhankar SA, Patil SG, Rao VS (2005) ISSR-PCR for assessment of genetic relationships among grape varieties cultivated in India. Vitis 44:127-131.

Dolores M, Carmen M, Boursiquot JM, This P (1998) Molecular marker analysis of vitis vnifera 'Albarino' and some similar grapevine cultivars. J. Amer. Soc. Hort. 123:842-848.

F.A.O (Food and Agriculture Organization) (2020) Statistic data grape production.

Fatahi R, Ebadi A, Bassil N, Mehlenbacher SA, Zamani Z (2003) Characterization of Iranian grapevine cultivars using microsatellite markers. Vitis 42:185-192.

Goldstein DB, Pollock DD (1997) Launching microsatellites: a review of mutation processes and method of phylogenetic inference. J. Hered. 88:335-342.

Haddadinejad M, Ebadi A, Naqavi M (2009) Molecular and morphological disturbances of parents and progenies resulting from the confluence of grains and pomegranate grains in order to determine the relationship between parent and offspring. Journal of Horticultural Science. 40:49-37. (In Farsi).

Herrera R, Cares V, Wilkınson MJ, Caligari PD (2002) Characterization of genetic variation between (Vitis vinifera) cultivars from central Chile using RAPD and inter simple sequence repeat markers. Euphytica 124:139-145

ing Z, Wang X, Cheng J (2013) Analysis of genetic diversity among Chinese wild Vitis species revealed with SSR and SRAP markers. Genet Mol Res 12:1962-1973

Kashi Y, Soller M (1999) Functional roles of microsatellites and minisatellites. In: Goldstein DB, Schlötterer C (Eds) Microsatellites: evolution and application. Oxford University Press, Oxford, Pp 10–23.

Khalkali A, Abaspoor H (2016) Investigation of genetic diversity in different grape varieties (*Vitis vinifera*) using ISSR molecular marker. Journal of Plant Ecophysiology 27:235-245. (In Farsi).

King D, Soller M, Kashi Y (1997) Evolutionary tuning knobs. Endeavour 21:36-40.

Kumar M, Mishra GP, Singh R, Kumar J, Naik PK, Singh SB (2009) Correspondence of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different apricot genotypes from cold arid deserts of trans-Himalayas. Physiology and Molecular Biology of Plants 15:225-236.

Mahmoudzadeh H, Rasoli V (2015) The effects of Crown gall resistance rootstocks on the growth, yield and fruit quality of Thompson grapevine (*Vitis Vinifera* L.). International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology 2:1-8.

Martinez LE, Cavagnaro PE, Masuelli RW, Zuniga M (2006) SSR-based assessment of genetic diversity in South American Vitis vinifera varieties. Plant Science 170:1036-1044.

Mohammadi SA (2006) Analyzing molecular data from Genetic Diversity Research. Key articles of the 9th Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding 96-119. (In Farsi)

Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants – salient statistical tools and considerations. Crop Science 43:1235-1248.

Moreno S, Martin JP, Ortiz JM (1998) Inter-simple sequence repeats PCR for characterization of closely related grape vine germplasm. Euphytica 101:117-125

Multani DS, Lyon BR (1995) Genetic fingerprinting of Australian cotton cultivars with RAPD markers. Genome 38:1005-1008.

Najafi J, Alipanah L, Gharayazi B, Mohammadi SA, Haghnazari A, This P (2006) Genetic diversity of Iranian and some European grapes revealed by microsatellite markers. Iranian Journal of Biotechnology 4:36-44.

Neveen AH, El-Homosany A, Amin HG, Mohamed AS (2011) Morphological and Issr Polymorphisms in Some Egyptian Grapes (*Vitis vinefera* L.) Collection. World Applied Sciences Journal 15:1369-1375.

Piccolo SL, Alfonzo A, Conigliaro G, Moschetti G, Burruano S, Barone A (2012) A simple and rapid DNA extraction method from leaves of grapevine suitable for polymerase chain reaction analysis. African Journal of Biotechnology 11:10305-10309.

Pradeep RM, Sarla N, Siddiq EA (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128:9-17.

Rasoli V (2016) Path analysis over environment of main yield components genetic contributions in grapevine. International Journal of Environmental Research 2:549-558.

Rasoli V (2019) Drought tolerance management in grapevine. Education and Extension of Agriculture Pub., Tehran.

Rasoli V, Golmohammadi M (2007) Evaluation of Drought Stress of Qazvin Province Grapevine Cultivars. Journal of Seed and Plant Improvement 25: 81-89.

Reddy M, Sarla N, Siddiq EA (2002) Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica 128:9-17.

Rossetto M, Jackes BR, Scott KD, Henry RJ (2001) Intergeneric relationship in the Australian Vitaceae: new

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Tagizad A, Ahmadi J, Haddad R, Zarrabi M (2011) Genetic diversity of Iranian Pistacia using some ISSR markers. Journal of Horticultural Science 25:453-460.

Thomas MR, Matsumoto S, Cain P, Scott NS (1993) Repetitive DNA of grapevine: classes present and sequences suitable for cultivar identification. Theor Appl Genet 86:73-180.

Wang Z, Weber JL, Zhong G, Tanksley SD (1994) Survey of plant short tandem DNA repeats. Theor Appl Genet 88:1-6.

Zeinali R, Rahmani F, Abaspour N, Doulati BH (2012) Molecular and Morphological Diversity among Grapevine (*Vitis Vinifera L.*) Cultivars in Iran. International Journal of Agriculture 2:735-743.

Zhang ZS, Xiao YH, Luo M, Li XB, Luo XY, Hou L, Li DM, Pei Y (2005) Construction of a genetic linkage map and QTL analysis of fiber related traits in upland cotton. Euphytica 44:91-99.

evidence from cpDNA analysis. Genetic Resources and Crop Evolution 48:307-314.

Sabir A, Tangolar S, Buyukalaca S, Kafkas S (2009) Ampelographic and Molecular Diversity among Grapevine (*Vitis* spp.) Cultivars. Czech J. Genet. Plant Breeding 45:160-168.

Salimia BR, Mujahed A (2019) Genetic diversity of grapevine (*Vitis vinifera* L.) as revealed by ISSR markers. J Plant Biotechnol 46:1-8.

Santos AR, Duarte D, Sousa S, Eiras_Dias J, Gomes AC (2013) An optimized set of microsatellites for grapevine identification. 36th world congress of vine and wine; 2-7 June 2013 Bucharest, Romania (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin: Paris, France)

Scott KD, Eggler P, Seaton G, Rossetto M, Ablett EM, Lee LS, Henry RJ (2000) Analysis of SSRs derived from grape ESTs. Theory and Applied Genetics 100:723-726.

Seyedimoradi H, Talebi R, Hassani D, Karami F (2012) Comparative genetic diversity analysis in Iranian local grapevine cultivars using ISSR and DAMD molecular markers. Environmental and Experimental Botany 10:125-132.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]