مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۱۹ شماره ۲ صفحه‌های ۲۱۳ تا ۲۲۶ (۱۳۹۷)

بررسی تنوع ژنتیکی میان برخی نژادگان‌های سیب محلی ایران و رقم‌های تجاری با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR وSRAP[1]

Assessment of Genetic Diversity Among Some Iranian Native Apple Genotypes and Commercial Cultivars Using SSR and SRAP Molecular Markers

علی بوته خاک، مجید طالبی*، بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی و حسن حاج نجاری[2]

چکیده

بیشتر رقم‌های سیب ایران با نام‌های محلی نام‌گذاری شده‌اند و بنابراین روابط ژنتیکی آن‌ها چندان مشخص نیست. در این پژوهش به‌منظور تعیین شناسنامه ژنتیکی برخی نژادگان‌های مختلف سیب‌های ایران و نیز مقایسه روابط ژنتیکی آن‌ها با رقم‌های تجاری خارجی از دو سیستم نشانگر ریزماهواره SSR (Simple sequence repeats) و SRAP (Sequence-related amplified polymorphism) استفاده شد. از بین ۱۴ جفت آغازگر ریزماهواره به‌کار رفته، ۹ جفت آغازگر به‌دلیل ایجاد چند شکلی مناسب، کارآمد تشخیص داده شدند. میانگین تعداد آلل‌ها در هر مکان ژنی ۶/۲۲ و میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده برابر ۰/۸۱ به‌دست آمد و تنوع ژنتیکی بالا در ماده‌های گیاهی مورد بررسی که ناشی از ماهیت خودناسازگاری و دگرگشنی سیب می‌باشد را تأیید کرد. در نشانگر SRAP، از مجموع ۵۶ ترکیب آغازگری استفاده شده، تعداد ۱۳ ترکیب چند شکلی مناسبی نشان دادند و ۱۹۴ نوار چند شکل (۸۵/۹٪) تولید نمودند. میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای ترکیب‌های آغازگری ۰/۳۴ محاسبه شد که با ماهیت خودناسازگاری و دگرگشنی سیب مطابقت نداشت. نتیجه‌های حاصل از این پژوهش نشان داد که توانایی نشانگر SSR در نشان دادن اطلاعات چند شکلی و میزان هتروزیگوسیتی در نژادگان‌های سیب نسبت به نشانگر SRAP بیشتر است و برخلاف نامگذاری منطقه‌ای سیب‌های بومی ایران، خاستگاه اصلی این نژادگان‌ها با نام جغرافیایی آن‌ها مطابقت ندارد. نزدیکی ژنتیکی سیب‌های خارجی نشان از شجره مشترک احتمالی آن‌ها دارد.

واژه های کلیدی : چند شکلی ژنتیکی، سیب ایران، نشانگرهای مولکولی، هتروزیگوسیتی.

مقدمه

سیب از جمله اولین میوه‌هایی است که بشر از دوران پیش از تاریخ و شروع دوران کشت شناخته و مورد استفاده قرار داده است. به‌علت دگرگشن بودن، در طول قرن‌ها از اختلاط گونه‌های مختلف و هم‌چنین از به هم آمیختن و تلاقی‌های درون‌گونه‌ای، رقم‌های جدیدی به‌وجود آمده‌اند که تشخیص اجداد آن‌ها برای دانشمندان مسئله پیچیده‌ای است (۴). از آن‌جایی که ایران نزدیک منشأ و خاستگاه سیب (ناحیه آسیای مرکزی و قرقیزستان) قرار دارد (۱۵)، گمان می‌رود رقم‌های سیب از تنوع ژنتیکی زیادی بهره‌مند باشند. از این‌رو جمع‌آوری و شناسایی

۱- تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱

۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد دانشگاه صنعتی اصفهان، دانشکده کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و دانشیار پژوهش، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (mtalebi@cc.iut.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

دقیق و صحیح ذخیره‌های ژنتیکی کشور و به همراه آن ارزیابی این نژادگان‌ها به‌عنوان قدم اول در پژوهش‌های ژنتیک و به‌نژادی اهمیت ویژه‌ای دارد. برخلاف ویژگی‌های ظاهری به‌تقریب مشابه، برخی رقم‌های سیب با نام‌های محلی مختلف نامگذاری شده‌اند، بنابراین روابط ژنتیکی آن‌ها چندان مشخص نیست (۱۱).

در دهه‌های پیشین استفاده از روش‌های تشخیص تنوع گیاهان بر اساس روش‌های مولکولی، به‌علت استوار بودن این روش‌ها بر تنوع موجود در سطح اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها، در مقایسه با داده‌های ریخت‌شناسی، کاربرد وسیع‌تری یافته است (۶). تاکنون تعداد زیادی از نشانگرهای DNA (Deoxyribonucleic acid) معرفی شده‌اند و در تجزیه‌های ژنتیک جانداران مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این نشانگرها از نظر بسیاری از ویژگی‌ها مانند درجه چند شکلی، بارز یا هم‌بارز بودن، تعداد جایگاه‌های بررسی شده در هر آزمایش، توزیع در سطح ژنوم، تکرارپذیری، نیاز یا نیاز نداشتن به توالی‌یابی DNA الگو و هزینه مورد نیاز با یکدیگر متفاوتند. انتخاب بهترین نشانگر به هدف بررسی (انگشت‌نگاری، تهیه نقشه پیوستگی، ژنتیک جمعیت و روابط تکاملی) و سطح پلوئیدی موجود مورد بررسی بستگی دارد (۶). در ابتدا فناوری RAPD [۱]برای تشخیص نقشه ژنتیکی در گیاهان مختلف به‌ویژه سیب به‌کار برده شد. اولین نقشه ژنتیکی سیب با فن RAPD در سال ۱۹۹۴ منتشر شد و از آن پس این روش در شناسایی رقم‌های سیب به‌کار رفت (۱). فناوری AFLP[۲] نیز برای تشخیص رقم‌های سیب به‌کار رفت (۱۷). اما استفاده از این شیوه به خاطر پیچیدگی روش و هزینه زیاد، در هر آزمایشگاهی میسر نیست. هر چند AFLP روش مناسبی برای تهیه نقشه‌های پیوستگی ژنی در گونه‌ها است، ولی قابلیت انتقال‌پذیری آن کمتر از ریزماهواره‌ها می‌باشد (۱۷).

ارزیابی تنوع ژنتیکی سیب ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی و ویژگی‌های ریخت‌شناسی در بررسی‌های مختلف، حاکی از تنوع ژنتیکی بالا در رقم‌های بومی و وارداتی ایران است (۱، ۳ ، ۵، ۹،۱۰، ۲۳). بررسی ذخایر ژنتیکی سیب‌های اهلی و وحشی از نقاط مختلف دنیا نشان داد که رقم‌های سیب ایرانی بیشتر به گونه‌های *Malus sieversii* از آسیای مرکزی و *M. orientalis* بومی ایران، ترکیه، روسیه و قفقاز مرتبط هستند (۵). افزون بر این، رقم‌های سیب ایرانی با رقم‌های قدیمی کشورهای غربی نیز ارتباط ژنتیکی دارند. بنابراین رقم‌های سیب ایرانی ممکن است بینابین رقم‌های اهلی و گونه‌های وحشی باشند و می‌توان از این منابع ژنتیکی برای گسترش تنوع ژنتیکی سیب‌های اهلی استفاده نمود.

در میان نشانگرهای مولکولی، نشانگرهای SSR[۳] کاربرد بیشتری برای بررسی‌های تکامل گیاهان و به‌نژادی آن‌ها دارد و این به‌دلیل قابل تکرار بودن آن‌ها، طبیعت چند آللی، ویژگی هم‌بارز و پوشش سرتاسری ژنوم است (۲۰، ۲۶). تاکنون جفت آغازگرهای اختصاصی متفاوتی از ریزماهواره‌ها در سیب شناسایی شده‌اند (۵، ۲۴، ۲۷). با استفاده از این ریزماهواره‌ها بررسی‌های متعددی در زمینه تشخیص رقم‌های سه‌گان از دوگان سیب‌ها انجام شده است (۱۶). استفاده از اطلاعات و پژوهش‌های قبلی در مورد جفت آغازگرهای SSR می‌تواند حجم کار و هزینه‌ها را تا حد بسیار زیادی کاهش دهد (۲). در یک بررسی تعداد ۱۴ نشانگر SSR طراحی شد و برای تعیین انگشت‌نگاری ۲۱ رقم تجاری سیب به‌کار برده شد. نتیجه‌ها نشان داد که استفاده از حتی سه نشانگر ریزماهواره طراحی شده قادر است ۲۱ رقم مورد بررسی را تفکیک نماید (۱۳). در بررسی دیگری از ۴۸ نشانگر SSR با توالی‌های تکراری دوتایی و سه‌تایی استفاده شد. مقایسه این نشانگرها نشان داد که توالی‌های دوتایی بیشتر از توالی‌های سه‌تایی در سیب، چندشکلی نشان می‌دهند (۱۴). تاکنون بیش از ۲۵۰ ریزماهواره برای شناسایی و بررسی نژادگان‌های سیب مشخص شده است (۱۶). در یک بررسی، تعداد ۱۴۰ جفت آغازگر جدید SSR روی رقم‌های سیب استفاده شد، که به‌علت داشتن چندشکلی زیاد برای جداسازی رقم‌های سیب موثر شناخته شدند

۱- Random Amplified Polymorphic DNA
۲- Amplified Fragment Length Polymorphism
۳- Simple Sequence Repeat

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

(۱۶). در بررسی دیگری (۱۲) از ۱۶ نشانگر SSR طراحی شده جهت شناسایی رقم‌ها مختلف سیب (*M. domestica*) استفاده شد. از دیگر نشانگرهای مبتنی بر PCR که اولین بار در سال ۲۰۰۱ توسط Li و Quirosمعرفی شد، نشانگر SRAP[1] است (۱۸). این نشانگر بر اساس افزایش توسط دو آغازگر ۱۷ تا ۱۸ نوکلئوتیدی دارای توالی مرکزی ۱۳ تا ۱۴ نوکلئوتیدی، که ۱۰ تا ۱۱ نوکلئوتید اول از سمت ´۵ آن دارای توالی اختصاصی نیستند و توسط توالی CCGG در آغازگرهای رفت و AATT در آغازگرهای برگشت، ادامه پیدا می‌کنند. این آغازگرها با سه نوکلئوتید تصادفی در انتهای ´۳ تکمیل می‌شوند. هدف از استفاده توالی CCGG در توالی آغازگر رفت به این دلیل است که ناحیه چارچوب قرائت باز (ORF[2]) از قسمت اگزون ژنوم را هدف‌گیری کند و این موضوع بر اساس این است که ناحیه اگزون به‌طور معمول دارای GC فراوانی است (۱۸). نشانگر SRAP به‌طور گسترده‌ای در تهیه نقشه‌های پیوستگی ژنتیکی، آنالیز تنوع ژنتیکی و مقایسه ژنتیکی گونه‌های مختلف گیاهی به‌کار برده می‌شود (۱، ۱۳). از جمله این بررسی‌هایی که برای تنوع ژنتیکی استفاده شده است می‌توان تعیین تنوع ژنتیکی زردآلو (۲۵)، مرکبات (۷) و موز (۲۹) را نام برد.

با توجه به لزوم شناسایی دقیق‌تر رقم‌های سیب به‌ویژه رقم‌های بومی سیب ایران در جهت به‌نژادی این محصول و هم‌چنین قابل اعتماد نبودن طبقه‌بندی سیب براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی، به‌نظر می‌رسد کاربرد نشانگرهای مولکولی در طبقه‌بندی و تعیین شناسنامه دقیق نژادگان‌های سیب ضروری باشد. هم‌چنین به‌دلیل کارایی زیاد نشانگرهای SRAP و SSR در تفکیک رقم‌ها، تعیین شناسنامه ژنتیکی رقم‌های سیب، بررسی روابط فیلوژنتیکی بین رقم‌های سیب و شناسایی رقم‌هایی که به‌صورت محلی نام‌های مختلف دارند و استفاده از آن‌ها در شناسایی دقیق سیب‌های بومی ایران اهمیت ویژه‌ای دارد. از این‌رو این پژوهش با هدف تعیین بهترین نشانگرهای ریزماهواره‌ای SSR و SRAP برای تفکیک رقم‌های سیب مورد کاشت در ایران و نیز تعیین رابطه ژنتیکی رقم‌های سیب داخلی و خارجی انجام شد.

مواد و روش‌ها

ماده‌های گیاهی

نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش شامل ۶۸ رقم و نژادگان سیب از انواع سیب‌های تجاری ایرانی و شماری رقم سیب خارجی (جدول ۱) بودند که نمونه‌های برگ آن‌ها استفاده شدند. نمونه‌های برگی از سرشاخه‌های تازه و جوان انواع سیب در اوایل مرداد ماه ۱۳۹۰ از رقم‌های موجود در مجموعه سیب واقع در ایستگاه تحقیقات کمال آباد کرج زیر نظر پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی تهیه گردید. نمونه‌های برگ از سرشاخه‌های جوان رقم‌ها و نژادگان مختلف به‌سرعت روی یخ به آزمایشگاه منتقل شده و بی‌درنگ در نیتروژن مایع منجمد شدند و تا زمان استخراج DNA در فریزر ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA از رقم‌های سیب مورد بررسی با روش Murry و Thompson در سال ۱۹۸۰ و استفاده از CTAB ۲٪ انجام گرفت (۲۲). کمیت DNA استخراج شده با مقایسه ضخامت باندهای DNA ژنومی با باند اول نشانگر اندازه III (شرکت Fermentas) به‌روش الکتروفورز در ژل آگارز تخمین زده شد و به روش اسپکتروفتومتری تایید گردید. عدم وجود کشیدگی باندی دلیل بر کیفیت مناسب نمونه‌های استخراج شده تلقی گردید. در انتها، با افزودن آب مقطر دو بار استریل به میزان لازم، DNA همه نمونه‌ها تا حدود $25\ ng\ \mu l^{-1}$ رقیق شد.

۱- Sequence-related Amplified Polymorphism

۲- Open reading frame

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

جدول۱- نام‌های نژادگان و رقم‌های سیب مورد استفاده در این پژوهش و منشا آن‌ها.

Table 1. Names and origin of apple cultivars and genotypes used in this study.

کد	رقم‌های وارداتی	منطقه جمع‌آوری	کد	رقم‌های بومی	منطقه جمع‌آوری	کد	نژادگان‌ها	منطقه جمع‌آوری
Code	Imported cultivar	Collected area	Code	Native cultivars	Collected area	Code	Genotypes	Collected area
12	Granny Smith1	Australia	50	Sharbati	Alborz	37	IRI1	Alborz
14	Granny Smith 2	Australia	29	GolBahar	Alborz	38	IRI2	Alborz
3	Golden Smoothee1	USA	51	Mashhad	Khorasan	39	IRI3	Alborz
10	Golden Smoothee2	USA	52	Mashhad Nouri	Khorasan	40	IRI5	Alborz
8	Yellow Transparent1	Russia	53	Dirras Mashhad	Khorasan	41	IRI6	Alborz
19	Yellow Transparent2	Russia	47	Paeyzeh Mashad	Khorasan	42	IRI7	Alborz
11	Starking1	USA	48	Boshghabi Balkhy	Azerbaijan	43	IRI8	Alborz
23	Starking 2	USA	49	Golshahi	Khorasan	44	Golden Karaj	Alborz
5	Jonathan1	USA	46	Morabaei Mashad	Khorasan	4	Spart Holand	Alborz
21	Jonathan2	USA	54	Paeyzeh Zard Mashad	Khorasan	36	Shirin wealthy	Alborz
15	Yellow Spur1	USA	55	Narsib Mashhad	Khorasan	2	Golden Holand	Alborz
20	Yellow Spur2	USA	56	Akhlamed Mashhad	Khorasan	68	Kompooti	Alborz
22	Yellow Spur3	USA	57	Soltani Shabestar	Azerbaijan	27	Englisi Shiraz	Fars
18	Idared	Russia	58	Golab Sahne	Kermanshah			
1	Top Red Delicious2	USA	59	Shishehei Tabriz 1	Azerbaijan			
17	Top Red Delicious2	USA	67	Shishehei Tabriz 2	Azerbaijan			
7	Empire All Red1	USA	60	Ahar 1	Azerbaijan			
13	Empire All Red2	USA	66	Ahar 2	Azerbaijan			
6	Jonagold	USA	64	Ardabil 1	Ardabil			
16	Prime Gold2	USA	65	Ardabil 2	Ardabil			
9	Golden Pearmain	USA	45	Golab Esfahan	Isfahan			
28	khorsijan	Isfahan	62	Heidarzade	Azerbaijan			
30	Shafiyi	Tehran	61	Zonooz Marand	Azerbaijan			
31	Azayesh	Isfahan	63	Sheikh Ahmad	Azerbaijan			
32	Golab Kohanz	Tehran	24	Deraz	Alborz			
33	Nayan Arange	Alborz	25	Assali	Alborz			
34	Haji Karaj	Alborz	26	Ghandak Kashan	Isfahan			
			35	GharaGhach	Azerbaijan			

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

واکنش PCR[1] با استفاده از نشانگر SSR

برای انجام واکنش PCR از تعداد ۱۴ جفت آغازگر اختصاصی SSR سیب استفاده گردید (جدول ۲). این آغازگرها کیفیت آللی مناسب و میزان چند شکلی بالایی در بین رقم‌های سیب در بررسی‌های قبلی نشان داده بودند (۲۳، ۲۴، ۲۷). واکنش PCR برای نمونه‌ها در حجم ۱۵ میکرولیتری انجام گرفت، که شامل ۱/۵ میکرولیتر بافر X ۱۰، یک میکرولیتر کلرید منیزیم ۵۰ mM، یک واحد آنزیم *Taq* DNA Polymerase، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، ۰/۴ میکرولیتر dNTPs ۱۰ میلی مولار و ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی از هر نمونه بود. برنامه دمایی واکنش PCR طوری تنظیم شد که پس از ۵ دقیقه واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس تعداد ۳۵ چرخه دمایی شامل ۳۰ ثانیه ۹۴ درجه سلسیوس، ۴۵ ثانیه در دمای اتصال بهینه (جدول ۲) و ۹۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه سلسیوس اعمال گردید. افزایش نهایی قطعه‌ها نیز در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. برای مشاهده قطعه‌های افزایش یافته از الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید غیر واسرشته و رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد.

جدول ۲- ویژگی‌های نشانگرهای SSR سیب مورد استفاده در پژوهش به‌همراه دمای اتصال بهینه سازی شده آن‌ها.

Table 2. Characteristics of apple SSR markers and their optimized annealing temperatures used in this study.

شماره No.	نام آغازگر Primer name	دمای اتصال Annealing temperature (°C)	اندازه قابل انتظار Expected size (bp)	توالی آغازگر Primer sequence	منبع Reference
1	CH01E12	56.3	246–278	F: AAA CTG AAG CCA TGA GGG C R: TTC CAA TTC ACA TGA GGC TG	8
2	CH01F03b	58	139–183	F: GAG AAG CAA ATG CAA AAC CC R: CTC CCC GGC TCC TAT TCT AC	14
3	CH04G04	60	170–186	F: AGT GGC TGA TGA GGA TGA GG R: GCT AGT TGC ACC AAG TTC ACA	14
4	CH01D09	60.5	134–172	F: GCC ATC TGA ACA GAA TGT GC R: CCC TTG ATT CAC ATT TCC AG	14
5	CH05E03	57.4	158–190	F: CGA ATA TTT TCA CTC TGA CTG GG R: CAA GTT GTT GTA CTG CTC CGA C	14
6	CH01F02	60	168–222	F: ACC ACA TTG GAG CAG TTG AGG R: CTG GTT TGT TTT CCT CCA GC	8
7	CH01B12	59.3	125–178	F: CGC ATG CTG ACA TGT TGA AT R: CGG TGA GCC CTC TTA TGT GA	8
8	CH01D03	57	136–160	F: CCA CTT GGC AAT GAC TCC TC R: ACC TTA CCG CCA ATG TGA AG	14
9	CH02F06	56	138–158	F: CCC TCT TCA GAC CTG CAT ATG R: ACT GTT TCC AAG CGA TCA GG	14
10	CH05A02	57	111–135	F: GTT GCA AGA GTT GCA TGT TAG C R: TTT TGA CCC CAT AAA ACC CAC	14
11	CH01H01	57.3	107–141	F: GAA AGA CTT GCA GTG GGA GC R: GGA GTG GGT TTG AGA AGG TT	8
12	02b1	60.5	212–238	F: CCG TGA TGA CAA AGT GCA TGA R: ATG AGT TTG ATG CCC TTG GA	8
13	05g8	57.3	115–147	F: CGG CCA TCG ATT ATC TTA CTC TT R: GGA TCA ATG CAC TGA AAT AAA CG	8
14	GD12	56	141–191	F: TTG AGG TGT TTC CCA TTG GA R: CTA ACG AAG CCG CCA TTT CTT T	14

۱- Polymerase Chain Reaction

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

واکنش PCR در نشانگر SRAP

برای انجام آزمایش‌های SRAP در یک آزمایش مقدماتی از تعداد ۴۹ ترکیب آغازگری ممکن روی چهار رقم ایرانی و چهار رقم خارجی استفاده گردید. پس از بهینه‌سازی شرایط واکنش و انتخاب آغازگرها، تعداد ۱۳ آغازگر که چند شکل بودند، روی تمامی رقم‌های مورد بررسی استفاده شد. شرایط واکنش، برنامه دمایی و توالی آغازگرها همانند بررسی Li و Quiros (۱۸) و الکتروفورز قطعه‌های افزایش یافته همانند نشانگر SSR انجام شد.

واکاوی داده ها

الگوهای نواری حاصل از واکنش PCR در نشانگر SSR به‌صورت آللی کدگذاری شد و تجزیه خوشه‌ای داده‌ها بر اساس ضریب تشابه Nei (۱۹۸۷) به روش UPGMA و با استفاده از نرم افزار Power Marker V3.25 (http://www.powermarker.net) صورت گرفت. به‌منظور ارزیابی کارآیی نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده، معیارهای مختلفی مانند هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، میزان اطلاعات چند شکل (PIC) و تعداد آلل‌های افزایش یافته توسط هر آغازگر محاسبه شد (۱، ۹، ۱۰). الگوی باندی به‌دست آمده در واکنش SRAP نیز بر اساس حضور یا عدم حضور باندها با اعداد یک و صفر برای هر رقم مشخص شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار NTSYSpc 2.02e واکاوی شد.

نتایج و بحث

نتیجه‌های حاصل از نشانگر SSR

در این پژوهش ۱۴ جفت آغازگر ریزماهواره طراحی شده از ژنوم سیب برای تعیین روابط ژنتیکی بین ۶۸ نژادگان و رقم این گیاه در نظر گرفته شد (جدول ۲). این جفت آغازگرها برای انگشت‌نگاری ژنتیکی گونه‌ها و رقم‌های سیب پیشنهاد شده‌اند (۱۳، ۱۶). از این تعداد آغازگر، ۹ جفت آغازگر توانستند افزایش خوبی در رقم‌های سیب مورد آزمایش داشته باشند و چند شکلی مناسبی را نشان دادند. پنج جفت آغازگر شامل CH0B12، GD12، CH01H01، CH02F06 و CH04G04 به‌علت عدم افزایش یا تولید تعداد زیاد باندهای اضافه و یا افزایش تنها یک مکان ژنی تک شکل در همه رقم‌ها، از ادامه آزمایش‌ها حذف گردیدند. تمامی این جفت آغازگرها چند شکلی مناسبی از ۴ تا ۹ آلل نشان دادند (جدول ۳). تعداد آلل‌های تکثیر یافته در هر ژنگاه نسبت به بررسی‌های قبلی صورت گرفته، کمتر است (۱۰، ۱۹). این اختلاف در تعداد آلل‌ها در هر ژنگاه، می‌تواند به تعداد و تنوع نمونه‌های مورد بررسی در پژوهش‌های مختلف مربوط باشد.

میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) برای این ۹ جفت آغازگر، ۰/۷۴ بود، ولی هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) در دامنه بین ۰/۵۸ تا ۰/۹۲ در مکان ژنی بیشتر جفت آغازگرها دیده شد، که میانگین آن‌ها ۰/۸۱ بود. مقدار بالای هتروزیگوسیتی مشاهده شده نشان دهنده میزان بالای خودناسازگاری و دگرگرده افشانی در رقم‌های سیب مورد بررسی است. میزان هتروزیگوسیتی مورد انتظار و مشاهده شده در مکان‌های ژنی مختلف تفاوت‌هایی را نشان داد، ولی میانگین این دو شاخص برای مکان‌های ژنی مختلف، نزدیک به‌هم بود. میزان هتروزیگوسیتی بالا و تعداد زیاد آلل‌های مشاهده شده با میانگین ۶/۲۲ آلل برای کلیه مکان‌های ژنی نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره‌ای سیب بسیار چند شکل بوده و می‌توانند در بررسی‌های تنوع ژنتیکی سیب سودمند باشند. در بررسی روی ۶۶ رقم سیب با هشت نشانگر SSR و ۶۲ رقم گلابی با شش نشانگر SSR، تعداد آلل مؤثر در هر مکان ژنی و مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده شده به‌ترتیب برابر ۵/۲۲ و ۰/۶۹ در سیب و ۳/۴۳ و ۰/۴۴ در گلابی بود. این نتیجه‌ها مشخص نمود که میزان تنوع ژنتیکی در سیب ۱/۵ برابر بیشتر از گلابی است (۲۸). به‌طور نسبی نتیجه‌های حاصل نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی در سیب بیش از گلابی است (۲۸). بررسی این

۱- Polymorphic Information Content

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

نتیجه‌ها با داده‌های حاصل از دیگر گیاهان خودناسازگار از تیره Rosaceae مانند گیلاس و گلابی نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی بالاتری در سیب وجود دارد (۲۸).

جدول۳-چکیده داده‌های آللی مربوط به جفت آغازگرهای SSR در نژادگان‌های سیب.

Table 3. Summary of SSR allele data revealed in apple genotypes.

نام لوکوس Locus name	تعداد آل‌ها No. of alleles	فراوانی آل عمده Major Allele Frequency	هتروزیگوسیتی مشاهده شده Ho	هتروزیگوسیتی مورد انتظار He	محتوای اطلاعات چندشکل PIC	P-value
CH01D09	9	0.1935	0.8416	0.8548	0.8213	0.4370
CH01E12	5	0.4262	0.7244	0.9016	0.6844	0.0233
CH05E03	8	0.2358	0.8252	0.6226	0.8018	0.3657
CH01F03b	4	0.3692	0.6695	0.5846	0.5977	0.1100
CH01D03	7	0.2344	0.8192	0.9219	0.7938	0.5143
CH05A02	4	0.3939	0.6755	0.8788	0.6105	0.0292
CH01F02	6	0.4615	0.6748	0.8615	0.6227	0.1271
05g8	6	0.4426	0.7095	0.8525	0.6677	0.4867
02b1	7	0.2846	0.7762	0.8000	0.7407	0.6228
Mean	6.22	0.3380	0.7462	0.8087	0.7045	0.3017

یکی از شاخص‌های مهم در بررسی داده‌های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره‌ای، محتوای اطلاعات چندشکل یا PIC هر آغازگر است. در این پژوهش میانگین PIC به‌دست آمده ۰/۷۰ بود. بالاترین PIC به جایگاه CH01D09 با تعداد ۹ آلل برابر با ۰/۸۲ مربوط است. پایین ترین PIC در نشانگر CH01F03b دیده شد که تنها ۴ آلل را افزایش نمود.

به‌منظور گروه‌بندی نژادگان‌ها، ماتریس تشابه داده‌ها با استفاده از ضریب نی ۱۹۸۳ تشکیل گردید. بر اساس ضرایب ارائه شده فاصله ژنتیکی رقم‌های سیب مورد بررسی در دامنه صفر تا ۰/۸۲ قرار داشت. بیشترین فاصله ژنتیکی بین رقم‌های استارکینگ ۱ و قندک کاشان (۰/۸۲) بود، که می‌تواند به‌علت فاصله جغرافیایی بین این دو رقم باشد. کمترین فاصله ژنتیکی برابر صفر بین رقم‌های سیب جاناتان-۱ و پرایم گلد-۱ برآورد گردید که بر شباهت ریخت‌شناسی در این دو رقم به‌احتمال شجره مشترک آن‌ها و هم‌چنین فاصله جغرافیایی که از یکدیگر دارند، تایید می‌کند. براساس فراوانی آلل‌های حاصل از جفت آغازگرهای SSR، با استفاده از ضریب تشابه نی ۱۹۸۳ و روش UPGMA، درخت فیلوژنی نژادگان‌های سیب ترسیم شد. مطابق دندروگرام ترسیم شده، نژادگان‌های سیب مورد بررسی در پنج گروه قرار گرفتند (شکل ۱).

بر اساس این دندروگرام، رقم‌های سیب خارجی به جز ولتی شیرین و استارکینگ-۲، در گروه ۱ و ۲ قرار گرفتند و متفاوت از سیب‌های ایرانی تقسیم‌بندی شدند. جداشدن رقم‌های خارجی از دیگر رقم‌های بومی نشان می‌دهد که این رقم‌ها مدت زمان کوتاهی است که در ایران کشت می‌شوند و از نظر ژنتیکی با یکدیگر متفاوت هستند. افزون بر این، اغلب رقم‌های خارجی به‌صورت پیوند روی رقم‌های بومی استفاده می شوند، بنابراین امکان تبادل ژنی بین رقم‌های خارجی و نژادگان بومی را کاهش می‌دهد. نکته قابل توجه در رقم‌های خارجی نزدیکی رقم جاناتان-۱ با رقم‌های نشأت گرفته از گلدن دلیشس مانند گلدن هلند، گلدن جون، گلدن اسموتی۱ -۲ و پرایم گلد می‌باشد. در بررسی‌های قبلی نیز تأیید شده است که جاناتان-۱ به‌علت داشتن شباهت‌های زیاد، در تلاقی با گلدن دلیشس جهت ایجاد واریته های جدید و مقاوم سیب مثل جوناگلد استفاده می‌شود (۲۱). در بین رقم‌های خارجی هم‌نام، تنها گرانی اسمیت-۱ بود که نزدیکی زیادی با گرانی اسمیت-داشت و مابقی به جز استارکینگ-۲ ، یلو اسپور-۲ و جاناتان-۲، در یک گروه قرار گرفتند ولی قرابت معنی‌داری را با هم نشان ندادند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

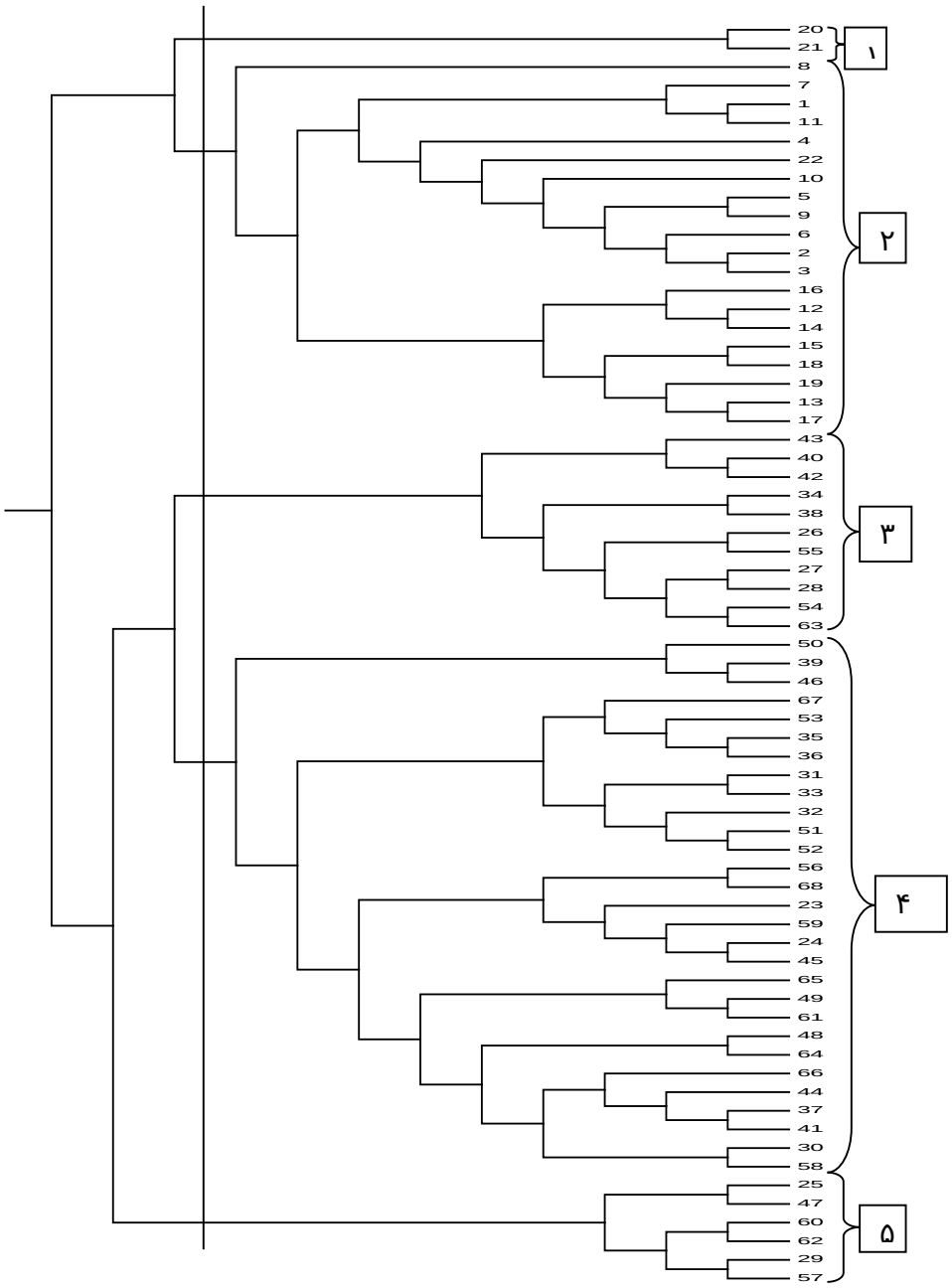

Fig. 1. UPGMA dendrogram of apple genotypes using SSR markers based on the Nei's coefficient. The codes refer to the abbreviations of genotypes as shown in Table 1.

شکل ۱- گروه‌بندی نژادگان‌ها و رقم‌های سیب بر اساس الگوهای باندی SSR، با استفاده از ضریب تشابه نی و روش UPGMA. کد نمونه‌ها بر اساس جدول ۱ انتخاب شده است.

رقم‌های بومی ایران بر اساس گروه‌بندی دندروگرام در سه گروه ۳، ۴ و ۵ قرار گرفتند که با منشا و پراکنش جغرافیایی رقم‌های سیب مورد بررسی چندان تطابق نداشتند. سیب‌های گلاب اصفهان، صحنه (کرمانشاه) و کهنز (تهران) از گروه سیب‌های مهم تجاری هستند که بیش از ۹۰٪ سطح زیر کشت سیب‌های گلاب را به خود اختصاص داده‌اند. ویژگی‌های ریخت‌شناسی مانند شکل کروی، طعم شیرین، آبداری میوه، اندازه میوه و زودرسی در این رقم‌ها مشابه است و بنابراین این همبستگی بین ویژگی‌های ریخت‌شناسی با گروه‌بندی ژنتیکی آن‌ها مطابقت دارد، هرچند این همبستگی در مورد منشاء جغرافیایی آن‌ها قابل توجه نیست. تعبیری که از این مقایسه

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

می‌توان استنباط کرد، نبود صحت در گزارش منشاء است، به این ترتیب که برخلاف نامگذاری منطقه‌ای نام سیب‌ها مانند گلاب اصفهان، مربایی مشهد، زنوز مرند، دیررس مشهد، شیشه‌ای تبریز، گلاب کهنز و گلاب صحنه در واقع خاستگاه اصلی آن‌ها این مناطق نبوده و از یک مکان مشترک ویژه‌ای منشاء گرفته و سپس به مناطق مختلف پراکنده شده‌اند.

نتیجه‌های این پژوهش مشابه نتیجه‌های ارشادی و همکاران در زمینه بررسی رقم‌های سیب ایرانی با استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌باشد (۱). بر اساس این نتایج، تنوع ژنتیکی در برخی از رقم‌های سیب مربوط به استان تهران و استان‌های مرکزی تابعی از تنوع جغرافیایی نیست، که علت این امر را انتقال احتمالی این رقم‌ها از دیگر مناطق به این منطقه از کشور دانسته‌اند. در پژوهش حاضر هر چند به‌نظر می‌رسد تنوع ژنتیکی رقم‌های سیب به‌طور کامل تابعی از تنوع جغرافیایی نیست، ولی قرارگیری رقم‌های بومی سیب با مراکز پراکنش متفاوت در گروه‌های کناری به‌هم نشان‌دهنده وجود رابطه ژنتیکی نزدیک در این نژادگان‌ها است.

نتیجه‌های به‌دست آمده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که سه مؤلفه اول در مجموع ۴۳/۴۵٪ از کل تغییرها را توجیه می نمایند. بنابراین می‌توان گفت آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش به‌طورکامل در سطح ژنوم پراکنده بوده و در یک قسمت از ژنوم متمرکز نشده‌اند (۲۸). به‌دلیل پایین بودن سهم سه مؤلفه اول، دسته‌بندی نمودارهای دوبعدی و سه‌بعدی با تقسیم بندی حاصل از دندروگرام همخوانی زیادی ندارد و ترسیم درخت خوشه ای نسبت به گروه‌بندی بر اساس چند مولفه اول بهتر است.

نتیجه‌های حاصل از نشانگر SRAP

از مجموع ۵۶ ترکیب آغازگری SRAP استفاده شده در این پژوهش، تعداد ۱۳ ترکیب از آغازگرها توانستند چند شکلی مناسبی در نژادگان‌ها نشان دهند (جدول ۴).

جدول۴- چندشکلی ترکیب‌های آغازگری SRAP در تکثیر DNA ژنومی سیب.

Table 4. Polymorphism number and rate for SRAP primer combinations used to amplify genomic DNA templates of apple.

ترکیب آغازگری Primer combination	تعداد کل نوارها No. total bands	تعداد نوارهای چند شکل No. polymorphic bands	درصد نوارهای چندشکل % Polymorphic bands	محتوای اطلاعات چندشکل PIC	هتروزیگوسیتی مورد انتظار Expected heterozygosity	شاخص اطلاعات شانون Shannon's information index
EM2-ME1	24	21	87.5	0.2490	0.3296	0.4891
EM3-ME3	5	4	80	0.4105	0.3786	0.5655
EM3-ME4	5	5	100	0.2813	0.2620	0.3904
EM3-ME5	18	17	94.4	0.3759	0.3431	0.5173
EM4-ME1	13	13	100	0.3653	0.3874	0.5640
EM4-ME4	13	8	61.5	0.3151	0.2676	0.4367
EM4-ME6	26	26	100	0.3255	0.3521	0.5477
EM6-ME4	11	9	81.8	0.4017	0.4352	0.5638
EM18-ME8	17	6	35.2	0.3310	0.2732	0.4088
EM5-ME5	4	4	100	0.3206	0.3375	0.6047
EM17-ME5	30	29	96.6	0.2853	0.3330	0.5133
EM17-ME4	23	21	91.3	0.2978	0.3252	0.4904
EM4-ME5	35	31	88.5	0.3002	0.3098	0.4753
Mean	17	14.9	85.90	0.3314	0.3390	0.5051

این آغازگرها در کل ۲۲۱ نوار با میانگین ۱۷ نوار به ازای هر ترکیب آغازگری تولید کردند که در این بین تعداد ۱۹۴ نوار با میانگین ۱۴/۹ به ازای هر ترکیب آغازگری چند شکل بودند. دامنه تعداد نوارهای افزایش شده

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

در ترکیب‌های آغازگری از ۳۵ نوار مربوط به ترکیب EM4-ME5 تا چهار نوار مربوط به ترکیب آغازگری EM5-ME5 متغیر بود. هم‌چنین دامنه نوارهای چند شکل افزایش شده توسط ترکیب‌های آغازگری بین ۳۱ تا چهار عدد متغیر بود که بیشترین تعداد نوار چند شکل توسط ترکیب آغازگری EM4-ME5 و کمترین تعداد نوار چند شکل توسط ترکیب آغازگری EM5-ME5 و EM3-ME3 تکثیر شد.

دامنه PIC محاسبه شده برای ترکیب‌های آغازگری بین ۰/۲۵ تا ۰/۴۱ متغیر بود و میانگین آن برابر با ۰/۳۳ به‌دست آمد. این میزان PIC به‌دست آمده بیانگر این است که آغازگرهای نشانگر SRAP نتوانستند همانند جفت آغازگرهای نشانگر SSR استفاده شده در این پژوهش چند شکلی میانگین و مناسبی برای تنوع ژنتیکی بین نژادگان‌های مورد بررسی ایجاد کنند.

میزان هتروزیگوسیتی محاسبه شده برای ترکیب‌های آغازگری بین ۰/۲۶ و ۰/۴۴ متغیر است. هم‌چنین میزان میانگین هتروزیگوسیتی برای ترکیب‌های آغازگری برابر با ۰/۳۴ محاسبه شد. هتروزیگوسیتی با سیستم گرده‌افشانی گیاه ارتباط مستقیم دارد. به این صورت که اگر گیاهی خودناسازگار و دگرگشن باشد، میانگین این شاخص به یک نزدیک می‌شود. بنابراین این میزان هتروزیگوسیتی منطقی به‌نظر نمی‌رسد، زیرا سیب یک گیاه خودناسازگار و دگرگشن است. در صورتی که این میزان هتروزیگوسیتی در جفت آغازگرهای نشانگر SSR استفاده شده در این پژوهش برابر ۰/۸۱ بود و از این‌رو خودناسازگاری و دگر گشنی سیب را تأیید می‌کند. در واقع می‌توان گفت توانایی نشانگر SSR در نشان دادن اطلاعات چند شکلی و میزان هتروزیگوسیتی در نژادگان‌های سیب در مقایسه با نشانگر SRAP بیشتر است. با توجه به‌این که نشانگرهای SSR همبارز می‌باشند و نشانگرهای SRAP بیشتر به‌صورت بارز بررسی می‌شوند، بنابراین نشانگرهای SSR قادر به تفکیک نژادگان‌های هتروزیگوت و هموزیگوت هستند، اما در نشانگر SRAP به‌دلیل افزایش مکان‌های ژنی مختلف در ژنوم و کدگذاری داده‌ها با اعداد صفر و یک قابلیت تفکیک نژادگان‌های هتروزیگوت و هموزیگوت به‌طور دقیق امکان پذیر نیست.

تجزیه خوشه‌ای داده‌های حاصل از نشانگر SRAP با استفاده ماتریس تشابه جاکارد و روش UPGMA با ضریب کوفنتیک ۰/۸۱ انجام گردید. بیشترین شباهت بین دو نژادگان گلدن کرج و اهر-۲ با میزان شباهت ۰/۹۲ و کمترین شباهت بین نژادگان‌های اسپارتان هلند و عسلی با میزان شباهت ۰/۳۱ به‌دست آمد.

تجزیه خوشه‌ای داده‌های SRAP نژادگان‌های مورد بررسی را در سه گروه قرار داد (شکل ۲). بر اساس این دندروگرام، بیشتر نژادگان‌های سیب در گروه اول قرار گرفتند که ۹۴/۱٪ از کل نژادگان‌ها را شامل می‌شد. رقم آمپایرآل رد در کلاستر شماره ۲ قرار گرفت و سه نژادگان ایرانی، عسلی، گل بهار و مربایی مشهد نیز جدا از دیگر رقم‌های ایرانی در کلاستر شماره ۳ قرار گرفتند. دو نژادگان گرانی اسمیت ۱و۲ همان‌طور که در نشانگر SSR مشاهده شد درکنار یکدیگر قرار گرفتند. هم‌چنین در این دندروگرام نژادگان‌های گلدن اسموتی ۱ و۲ نیز کنار یکدیگر قرار گرفتند. در زیر گروه‌ها مشاهده می‌شود که تا حدودی رقم‌های خارجی از رقم‌های ایرانی جدا شده است. به‌نظر می‌رسد در این دندروگرام تعداد زیر گروه‌های حاصل از نشانگرSRAP در هر دسته زیاد است و نسبت به نشانگر SSR کمتر توانسته نژادگان‌ها را در کنار یکدیگر قرار دهد. هر چند بیشتر رقم‌های سیب در گروه اول قرار گرفته‌اند، اما به‌دلیل سطح پایین تشابه ژنتیکی و نیز اختلافات موجود در انشعابات دندروگرام، گوناگونی ژنتیکی بالایی در این رقم‌ها دیده می‌شود. این پژوهش‌ها نشان می‌دهد برخلاف این‌که آغازگرهای SRAP در جداسازی رقم‌های خارجی از ایرانی تا حدودی موفق نبوده است، ولی در جداسازی رقم‌های سیب به میزان زیادی موفق بوده و تعداد زیاد زیر گروه‌های حاصل، حاکی از تنوع بالای این رقم‌ها است.

باید توجه داشت که منابع ژنتیکی سیب ایران در امتداد مسیر جاده ابریشم واقع شده است. این منابع ژنتیکی با توجه به فشارهای کم انتخابی، طیف وسیعی از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت شناختی را نشان می‌دهند و

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

برخی از آن‌ها می‌توانند به‌صورت رقم‌های جدید در نظر گرفته شوند و یا به‌عنوان والدین در یک برنامه بهنژادی استفاده شوند (۸).

تفاوت دندروگرام‌های نشانگرSRAP و SSR به ماهیت این دو نشانگر بر می‌گردد. نشانگر SSR نواحی تکرار شونده ژنوم را در قسمت غیر کد شونده به‌طور اختصاصی تکثیر می‌کند. جهش‌های ژنتیکی بسیار زیادی که در این نواحی رخ می‌دهد می‌تواند علت تنوع بین نژادگان‌ها در تجزیه و تحلیل با این نشانگر باشد. از طرف دیگر نشانگر SRAP بیشتر قسمت‌های عملکردی ژنوم از جمله چهارچوب قرائت باز (ORF) و هم‌چنین قسمت های کد کننده در سراسر ژنوم را تکثیر می‌کند (۱۸). بنابراین گروه‌بندی متفاوت حاصل از نشانگر SRAP نسبت به نشانگر SSR را می‌توان به ماهیت این نشانگر و نحوه افزایش آن در ژنوم ربط داد و گروه‌بندی حاصل از آن را نمی‌توان با اطلاعات محدود ریخت‌شناسی در دسترس توجیه کرد و نیاز به اطلاعات ریخت‌شناسی بیشتری در مورد نژادگان‌های سیب می‌باشد. دندروگرام حاصل از نشانگر SSR دارای زیر گروه‌های کمتری نسبت به دندروگرام نشانگر SRAP می‌باشد. این امر می‌تواند به‌دلیل افزایش تعداد زیاد مکان ژنی در نشانگر SRAP نسبت به نشانگرSSR باشد.

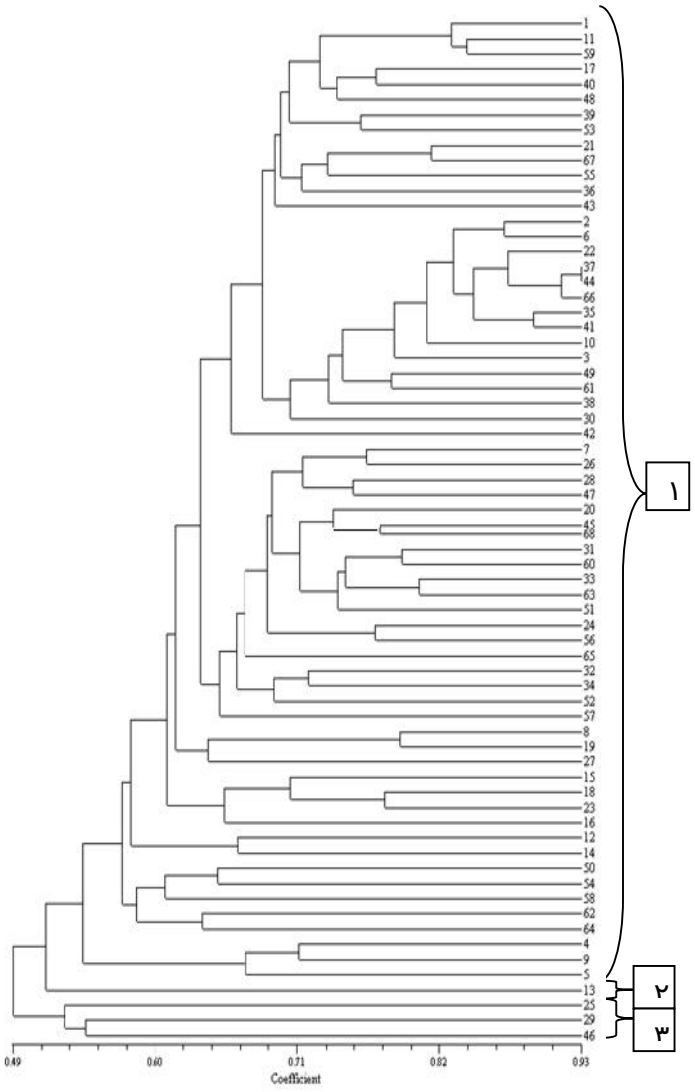

Fig. 2. UPGMA dendrogram of apple genotypes using SRAP markers based on the Jaccard's coefficient. The codes refer to the abbreviations as shown in Table 1.

شکل ۲- گروه‌بندی نژادگان و رقم‌های سیب بر اساس الگوهای باندی SRAP، با استفاده از ماتریس تشابه جاکارد و روش UPGMA . کد نمونه‌ها بر اساس جدول ۱ انتخاب شده است.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

بر اساس نتیجه‌های حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در داده‌های SRAP، سه مؤلفه اول در مجموع ۶۸/۹٪ از کل تغییرها را توجیه می‌نمایند که نشان‌دهنده سهم زیاد سه مؤلفه اول در توجیه تغییرات است. بنابراین این آغازگرها به‌طور کامل در سطح ژنوم پراکنده نیستند و بر خلاف انتظار ممکن است در یک قسمت یا قسمت‌هایی از ژنوم بیشتر باشند. به سبب بالا بودن سهم سه مؤلفه اول، در این مرحله، برخلاف روش SSR، تقسیم‌بندی نمودار دوبعدی و سه‌بعدی هم با تقسیم‌بندی حاصل از دندروگرام SRAP در روش تجزیه خوشه‌ای هماهنگی دارد، ولی استفاده از تجزیه خوشه‌ای به‌دلیل به‌کارگیری تمامی تغییرها و چند شکلی‌های ژنتیکی در مقایسه با تجزیه به مولفه‌های اصلی ترجیح داده می شود.

نتیجه گیری

در مجموع نتیجه‌های حاصل از این بررسی نشان داد که توانایی نشانگر SSR در نشان دادن اطلاعات چند شکلی و میزان هتروزیگوسیتی در نژادگان‌های سیب نسبت به نشانگر SRAP بیشتر است و برخلاف نامگذاری منطقه‌ای سیب‌های بومی ایران، خاستگاه اصلی این نژادگان‌ها با نام جغرافیایی آن‌ها مطابقت نداشته و ممکن است پس از منشاء گرفتن از یک مکان مشترک خاص به دیگر مناطق مختلف کشور پراکنده شده باشند. نتیجه‌های حاصل از این بررسی نشان داد که منابع ژنتیکی سیب ایران متنوع بوده و به‌دلیل وجود فشارهای اندک انتخابی، منبع بسیار ارزشمندی برای استفاده از آن‌ها در برنامه‌های بهنژادی است. سیب‌های خارجی به‌ویژه نژادگان‌های گرانی اسمیت ۱ و ۲ (کدهای ۱۲ و ۱۴) در هر دو نشانگر نزدیکی ژنتیکی زیادی داشتند که نشان‌دهنده شجره مشترک احتمالی آن‌هاست.

منابع References

۱. ارشادی، ا. ۱۳۸۲. ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۳ رقم سیب ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. ایران. ۱۲۰ ص.

۲. صفرپور، م. ۱۳۸۶. ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام سیب بومی ایرانی با استفاده از نشانگرهای SSR و ISSR. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه صنعتی اصفهان. ایران. ۱۰۳ص.

۳. مظفری، ج، ا.ح. بکایی، م. مدیری. ۱۳۸۰. انگشت نگاری ژنتیکی ارقام بومی سیب ایران با استفاده از نشانگر SSR. خلاصه مقالات هفتمین کنگره باغبانی ایران. اصفهان. ایران. ص ۱۷.

۴. منیعی، ع.ع. ۱۳۸۰. کشت و پرورش سیب. چاپ دوم. انتشارات فنی ایران. تهران-ایران. ۳۳۹ ص.

۵. نقشین، ف. ۱۳۸۶. ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام سیب بومی ایرانی با استفاده از نشانگرهای SSR و ISSR. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه صنعتی اصفهان. ایران. ۱۰۳ص.

۶. نقوی، م.ر، ق. حسینی سالکده، ب. قره‌یاضی. ۱۳۸۶. نشانگرهای ملکولی. دانشگاه تهران. ایران. ۳۵۰ ص.

7. Amar, M.H., M.K. Biswas, Z. Zhang and W.W. Guo. 2011. Exploitation of SSR, SRAP and CAPs-SNP markers for genetic diversity of citrus germplasm collection. Sci. Hort. 128(3): 220-227.

8. Damyar, S., D. Hassani, R. Dastjerdi, H. Hajnajari, A.A. Zeinanloo and E. Fallahi. 2007. Evaluation of Iranian native apple cultivars and genotypes. J. Food Agr. Environ. 5(3/4): 207–211.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

9. Farrokhi, J., R. Darvishzadeh, L. Naseri, M. Azar and H.H. Maleki. 2011. Evaluation of genetic diversity among Iranian apple (*Malus* × *domestica* Borkh.) cultivars and landraces using simple sequence repeat markers. Aust. J. Crop Sci. 5(7): 815–821.

10. Gharghani, A., Z. Zamani, A. Talaie, N. Oraguzie, R. Fatahi, H. Hajnajari, C. Wiedow and S.E. Gardiner. 2009. Genetic identity and relationships of Iranian apples (*Malus* × *domestica* Borkh) cultivars and landraces, wild apple species and representative old apple cultivars based on SSR markers. Genet. Resour. Crop Evol. 56(6): 829–842.

11. Gharghani, A., S. Solhjoo and N. Oraguzie. 2016. A review of genetic resources of pome fruits in Iran. Genet. Resour. Crop Evol. 63(1): 151–172.

12. Gianfranceschi, L., N. Seglias, R. Tarchini, M. Komjanc and C. Gessler. 1998. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. Theor. Appl. Genet. 96(8): 1069-1076.

13. Guilford, P., S. Prakash, J.M. Zhu, E. Rikkerink, S. Gardiner, H. Bassett and R. Forster. 1997. Microsatellites in *Malus domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. Theor. Appl. Genet. 94(2): 249-254.

14. Hokanson, S.C., A.K. Szwce-McFadden, W.F. Lamboy and J.R. McFerson. 1998. Mcrosatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus domestica* borkh. core subset collection. Theor. Appl. Genet. 97(5-6): 671-683.

15. Juniper, B.E., R. Watkins and S.A. Harris. 1999. The origin of apple. Acta Hort. 484: 27-33.

16. Liebhard, R., L. Gianfranceschi, B. Koller, , N. Seglias, J. McDermott and C. Gessler. 2002. Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus domestica* Borkh). Mol. Breed. 10(4): 217-241.

17. Kutill, B.L. and C.G. Williams. 2001. Triplet- repeat microsatellite a shared among hard and soft pines. J. Hered. 92(4): 327-332.

18. Li, G. and C.F. Quiros. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica.* Theor. Appl. Genet. 103(2-3): 455-461.

19. Liebhard, R., L. Gianfranceschi, B. Koller, C.D. Ryder, R. Tarchini, E. van de Weg and C. Gessler. 2002. Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus* × *domestica* Borkh.). Mol. Breed. 10(4): 217–241.

20. Mcneal, J.R., J.V. Kuehi and J.L. Boor. 2007. Complete plastid genome sequences suggest strong selection for retention of photosynthetic genes in the parasitic plant genus *Cuscuta.* BMC Plant Biol. 7(1):57.

21. Morgan, G. and R. Alison. 2002. Apples. Ebury Press. London.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

22. Murray, G.C. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Res. 8(19): 4321-4325.

23.Naseri, L., R. Darvishzadeh, M.M. Azar and A. Alizadeh. 2011. Molecular characterization and similarity relationships among some Iranian native and commercial apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars using simple sequence repeat markers. J. Hort. Sci. Biotech. 86(5):527–533

24. Tobutt, K.R. 1994. Combining apetalous parthenocarpy with columnar growth habit in apple. Euphytica, 77(1-2): 51-54.

25. Uzun, A., O. Gulsen, U. Seday, M. Bircan and K. U. Yilmaz. 2010. SRAP based genetic analysis of some apricot cultivars. Roman. Biotech. Let. 15: 5396-5404.

26. Vahspari, G.Z. and J. Jarka. 2000. Microsatellites indifferent eukayotic genomes: survey and analysis. Genome Res. 10: 967-981.

27. Vinatzer, B.A., A. Patocchi, S. Tartarini, L. Gianfranceschi, S. Sansavini and C. Gessler. 2004. Isolation of two microsatellite markers from BAC clones of the Vf scab resistance accessions in Malus germplasm. Plant Breed. 123(4): 321-326.

28. Yamamoto, T., T. Kimura, Y. Sawamura, K. Kotobuki, Y. Ban and T. Hayashi. 2001. SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. Theor. Appl. Genet. 102(6-7): 865-870.

29 Youssef, M., A.C. James, R. Rivera-Madrid, R. Ortiz and R.M. Escobedo-GraciaMedrano. 2011. Musa genetic diversity revealed by SRAP and AFLP. Mol. Biotech. 47(3): 189-199.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 19 (2):213-226 (2018)

Assessment of Genetic Diversity Among Some Iranian Native Apple Genotypes and Commercial Cultivars Using SSR and SRAP Molecular Markers

A. Bootekhak, M. Talebi*, B.S.E. Tabatabaei, H. Hajnajari[1]

Most of the Iranian apple cultivars have been named based on their local names, therefore, their genetic relationships are not clearly specified. In order to determine genetic diversity of various Iranian apple genotypes and comparison between their genetic relations with commercial cultivars, we used microsatellite or simple sequence repeats (SSR) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. Among 14 used microsatellite primer pairs, nine of them were polymorphic. The average number of alleles and observed heterozygosity (Ho) for all loci were 6.22 and 0.81, respectively, which confirmed the high genetic variability among genotypes due to self-incompatibility and cross pollination of apple. Among 56 SRAP primer combinations, 13 of them were polymorphic and produced 194 polymorphic bands (85.9%). The average of observed heterozygosity was computed as 0.34 that does not seem logicl, because apple is an self-incompatible plant. The results revealed that the microsatellite marker system is more reliable than SRAP marker system to indicate information of polymorphic and amount of heterozygosity in apple genotypes and despite nomenclature of apple cultivars based on local cultivation, the main origins of them do not match their geographical names. The genetic similarity of commercial apple trees indicates their common ancestory.

Keywords: Genetic polymorphism, Heterozygosity, Iranian apple، Molecular markers.

1. M.Sc. Student, Associate Professor and Professor, Department of Biotechnology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Associate Professor, Temperate and Cold Fruit Research Center, Horticulture Sciences Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Orgainzation, Karaj, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (mtalebi@cc.iut.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1397.19.2.4.6]