تنوع و روابط ژنتیکی برخی ژنوتیپ‌های انگور (*Vitis vinifera* L.) استان اصفهان با استفاده ازنشانگرهای RAPD

سیروس قبادی[۱*]، مرتضی خوشخوی[۲] و بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی[۳]

(تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۱۶)

چکیده

انگور (*Vitis vinifera* L.) از گیاهان مهم باغی است که از طریق غیرجنسی تکثیر می‌شود. شناسایی ژنوتیپ‌های انگور معمولاً بر اساس مشخصات تاک نگاری گیاه بالغ صورت می‌گیرد که تحت تأثیر شرایط محیط قراردارد. این نگرش تا حد نسبتاً زیادی فاقد اعتبار و اطمینان است. با این رویکرد از نشانگرهای مولکولی به‌عنوان روش‌های مکمل درتعیین تنوع و روابط ژنتیکی گیاهان باغی استفاده می‌شود. دراین پژوهش تنوع و روابط ژنتیکی بیست ژنوتیپ (رقم) انگور متعلق به گونه *V. vinifera* که در استان اصفهان کشت می‌شوند با استفاده از نشانگرهای RAPD مورد بررسی قرار گرفت. از تعداد ۵۰ آغازگر تصادفی ده نوکلئوتیدی تعداد ۲۴ آغازگر با الگوی نواری تکرارپذیر انتخاب و برای گروه بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شد. از مجموع ۳۱۵ نوار تکثیری ۲۸۲ نوار چندشکل و۳۳ نوار تک شکل بودند. تعداد متوسط نوارها به ازاء هر آغازگر ۱۳ و دامنه قطعات تکثیری از ۳۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز متغیر بود. گروه بندی ژنوتیپ‌ها به روش تجزیه خوشه‌ای و با استفاده از الگوریتم UPGMA، ۱۹ ژنوتیپ را دریک گروه بزرگ با چهار زیر گروه و ژنوتیپ مادرووبچه به‌دلیل فاصله ژنتیکی زیاد با بقیه ژنوتیپ‌ها دریک گروه جداگانه قرار داد. با توجه به معیارهای تاک نگاری، احتمال داده می‌شود که ژنوتیپ جدا شده متعلق به گونه‌های دیگر جنس *Vitis* باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که تکنیک RAPD می‌تواند به عنوان یک روش مولکولی مناسب برای تعیین تنوع ژنتیکی، تجریه ژنومی و تعیین رابطه ژنتیکی ارقام انگور استفاده می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: RAPD، روابط ژنتیکی، تنوع ژنتیکی، شناسایی ارقام انگور

مقدمه

انگور(*Vitis vinifera* L.)، یکی از مهم‌ترین محصولات میوه‌ای باغی است که از دیربازمورد استفاده بشر قرار می‌گیرد. این گیاه از نظر اقتصادی بسیار حائز اهمیت می‌باشد و تنوع مصرف جهانی و سطح زیر کشت این گیاه اهمیت آن را چندین برابر کرده است(۱). انگور گیاهی چوبی، دائمی و کم و بیش سازگار با مناطق مختلف آب و هوایی است. میوه آن در میان دیگر میوه‌های درختی به‌واسطه داشتن متابولیت‌های ثانویه و تنوع مصرف (تازه خوری، کنسروی، خشکباری) منحصر به فرد و جایگاه خاصی در تجارت جهانی دارد (۵). انگور از نظر ساختار و مورفولوژی به‌طور قابل ملاحظه‌ای با گیاهان مدل مانند برنج و *Arabidopsis* که ژنوم آنها توالی یابی شده است متفاوت

۱. مربی علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان (در حال حاضر دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشگاه شیراز)

۲. استاد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۳. دانشیار بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: cyrus@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]

می‌باشد. اندازه ژنوم انگورMbp ۴۷۵ و تعداد ژن‌های آن بیشتر از گیاه علفی *Arabidopsis* و تقریباً برابر ژنوم برنج است(۱۷).

به‌دلیل حجم زیاد ژرم پلاسم انگور در نواحی مختلف اکولوژیکی کشور تا کنون بیش از ۲۵۰ رقم (ژنوتیپ) از آنها گزارش شده است و غالباً به دلیل عدم بررسی و شناسایی کامل ممکن است ارقام با اسامی متفاوت در نقاط مختلف موخیز در کشور نام‌گذاری شده باشند. ارقام انگور معمولاً بر اساس ۱۳۰ صفت مورفولوژیک(۲۳) و معیارهای سنتی تاک نگاری (Amplography) در مراحل فنولوژیکی خاص در گیاهان بالغ، ارزیابی و با استفاده ازروش‌های آمپلوگرافیک شناسایی و گروه‌بندی شده‌اند. از طرف دیگر چون صفات ظاهری گیاه تحت تأثیر عوامل محیطی بوده و در اکثر اوقات پارامترهای مورفولوژیک به دلیل عدم ثبات و تغییر پذیری زیاد نمی‌توانند معیار خوبی برای تشخیص کامل شباهت‌ها (Synonymies) و تفاوت‌های ارقام انگور باشند، در اغلب اوقات تمیز و تشخیص ارقام از یکدیگر با مشکل روبه‌رو است. با این رویکرد نشانگرهای مولکولی ابزارهای مکمل برای درک بهتر شباهت‌ها و تفاوت‌های ژنتیکی ارقام انگورمی باشند. نشانگرهای مولکولی تحت تأثیر شرایط محیط قرار نمی‌گیرند، در سرتاسر ژنوم پراکنده‌اند، دارای پیوستگی با ژن‌های کنترل کننده صفات مهم کشاورزی هستند و می‌توانند تفاوت‌های افراد را درسطح توالی نوکلئوتیدی ژنوم مشخص نمایند (۳).

در سال‌های اخیر از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR به عنوان ابزاری توانمند برای شناسایی چندشکلی (Polymorphism) و مطا لعه تنوع و روابط ژنتیکی درگیاهان استفاده شده است (۸، ۹، ۲۲ و ۲۸). در بین نشانگرهای مختلف مولکولی، از نشانگرهای RAPD که برمبنای تکثیر قطعات تصادفی DNA ژنوم استوار است و نیازی به اطلاع دقیق از توالی DNA الگو ندارد (۳۶) به‌طور موفقیت آمیزی برای تعیین سطح تنوع ژنتیکی (۲۵)، تهیه نقشه‌های ژنتیکی (۱۹)، بررسی روابط خویشاوندی (۱۳ و ۳۲) و شناسایی ارقام در گونه‌های مختلف درختان میوه مناطق معتدله (۳۸) و دیگرگیاهان باغی مانند چای (۳۰)، سیب زمینی (۲۰)، انگور (۱۶،۱۲)، خربزه (۱۱)، توت فرنگی (۴۰)، فلفل (۲۵)، گوجه فرنگی (۱۵)، و پسته (۲ و ۳۸) استفاده شده است و علیرغم ناپایداری نتایج حاصل از آنها، به دلیل استفاده از آغازگرهای کوتاه و دمای پایین اتصال به DNA الگو که باعث تکثیر غیراختصاصی برخی از نواحی ژنوم می‌گردد (۳۳) کاربرد فراوان دارد، عوامل مؤثر در تکرارپذیری نشانگرهای RAPD در مطالعات مختلف بررسی شده است (۲۱). کالینز و سایمونز(۴)، استریم وهمکاران (۳۱)، یی و همکاران (۳۹) وانگ و همکاران (۳۴) به ترتیب از نشانگرهای RAPD جهت شناسایی ارقام انگور، شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفت بی دانه بودن در انگور، بررسی تشابه ژنتیکی بین انگورهای گونه‌های اروپایی که از طریق غیرجنسی تکثیر می‌شوند و تمایز ژنوتیپ‌های انگور متعلق به گونه‌های مختلف، استفاده کرده‌اند.

در پژوهش حاضر از نشانگرهای RAPD برای تعیین سطح تنوع ژنتیکی و روابط ارقام (ژنوتیپ‌های) انگور موجود در کلکسیون‌های باغ‌های میوه دانشگاه صنعتی اصفهان و مرکز تحقیقات کشاورزی استان اصفهان به منظور هدایت برنامه‌های اصلاح انگور استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۲۰ ژنوتیپ انگورگونه *V. vinifera* از کلکسیون باغ میوه دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان(۱۲ رقم) و کلکسیون باغ میوه مرکز تحقیقات کشاورزی استان اصفهان (۸ رقم) که در شرایط عملیات زراعی معمول قرار داشتند (جدول ۱) استفاده گردید، در اواخر فصل بهار ۱۳۸۶ از هر رقم تعداد چهار تا پنج برگ جوان و سالم نزدیک به انتهای شاخه‌های سال جاری که از نظر فیزیولوژیکی توسعه یافته بودند انتخاب و برای استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌ها پس از انجماد سریع در نیتروژن مایع تا زمان استخراج DNA در فریزر ^{o}C ۸۰- نگه‌داری شدند. استخراج DNA به روش لودهی وهمکاران (۱۸) وتغییر یافته روش دویل و دویل(۶) انجام شد. کمیت وکیفیت DNA استخراج شده

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]

جدول ۱. برخی خصوصیات مورفولوژیکی میوه ارقام انگور(*Vitis vinifera* L.) مورد مطالعه در این پژوهش

شماره رقم	نام محلی رقم انگور	رنگ حبه انگور	دانه دار	بی دانه	شکل و اندازه حبه انگور	مصرف	محل کلکسیون
V۱	یاقوتی سفید	زرد سفید		x	گرد – کوچک	تازه خوری	دانشگاه صنعتی
V۲	یاقوتی سیاه	قرمز		x	گرد – کوچک	تازه خوری	دانشگاه صنعتی
V۳	ریش بابا سفید	سفید	x		کشیده – درشت	تازه خوری	دانشگاه صنعتی
V۴	ریش بابا سیاه	قرمز	x		کشیده – درشت	تازه خوری	دانشگاه صنعتی
V۵	کشمشی سفید قزوین	لیمویی		x	گرد – متوسط	کشمش– شیره	دانشگاه صنعتی
V۶	کشمشی قرمز قزوین	قرمز		x	گرد – متوسط	کشمش– شیره	دانشگاه صنعتی
V۷	مهره دانشگاه	سفید	x		گرد – درشت	تازه خوری	دانشگاه صنعتی
V۸	مهره تحقیقات	سفید	x		گرد – درشت	تازه خوری	مرکز تحقیقات
V۹	عسگری اصفهان	سبز لیمویی	x		کشیده – متوسط	تازه خوری – کشمش	دانشگاه صنعتی
V۱۰	رطبی	سبز	x		بیضی – متوسط	تازه خوری– کشمش	دانشگاه صنعتی
V۱۱	شاهانی	قرمز تیره	x		گرد – درشت	تازه خوری – کشمش	مرکز تحقیقات
V۱۲	سیاه معمولی	بنفش تیره	x		گرد – متوسط	تازه خوری – شیره	مرکز تحقیقات
V۱۳	خلیلی	زرد لیمویی	x		گرد – متوسط	تازه خوری – کشمش	دانشگاه صنعتی
V۱۴	عسگری شیراز	سفید	x		کشیده – متوسط	تازه خوری – کشمش	دانشگاه صنعتی
V۱۵	شاهرودی	سبز لیمویی	x		گرد – درشت	تازه خوری – کشمش	مرکز تحقیقات
V۱۶	مثقالی	سبز روشن	x		گرد – متوسط	تازه خوری	مرکز تحقیقات
V۱۷	الحقی	سفید	x		کشیده – متوسط	تازه خوری – کشمش	مرکز تحقیقات
V۱۸	سیاه شرابی	قرمز تیره	x		گرد – متوسط	تازه خوری – شیره	مرکز تحقیقات
V۱۹	مادر و بچه	سبز تیره	x		گرد – درشت	تازه خوری	مرکز تحقیقات
V۲۰	سیاه دانه ریز	بنفش تیره	x		گرد – کوچک	تازه خوری	دانشگاه صنعتی

با مقایسه تراکم نوارهای‌های DNA هر نمونه با تراکم نوارهای‌های نشانگرIII (از شرکت Fermentas) در ژل آگارز ۰/۸ درصد در بافر 1X TBE (90 mM Tris-Borate pH 8.0, 1mM EDTA) (وزن/حجم) و روش اسپکتروفوتومتری تعیین شد.

به منظور انتخاب مناسب‌ترین آغازگر، تعداد ۵۰ آغازگر ده نوکلئوتیدی تصادفی از شرکت‌های UBC,Canada; Operon Technologies, USA; Gdonsk, P/L; Pharmacia, SW با دو نمونه DNA از دو ژنوتیپ انگور توانایی تکثیر DNA ژنومی ارزیابی گردید و از این تعداد، ۲۴ آغازگر که الگوی نواری تکرارپذیر داشتند (جدول ۲) انتخاب و برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها (ارقام) مورد استفاده قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر شامل ۱/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR (10 mM Tris-HCl pH 8.3, 50 mM KCl) حاوی ۲/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، یک واحد آنزیم *Taq* DNA Polymerase، ۲۰ پیکومول از هر آغازگر، ۰/۲ میلی مولار مخلوط نوکلئوتیدی (dNTPs) و۳۰ نانوگرم DNA ژنومی انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه ۵ دقیقه‌ای در $95^{\circ}C$ و ۳۰ چرخه ۴۰

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]

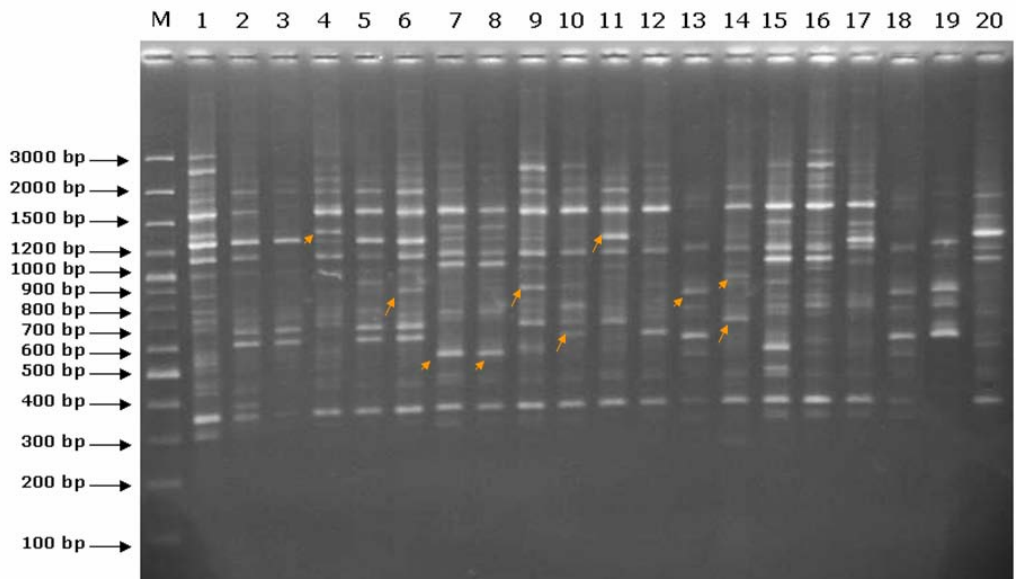
جدول ۲. آغازگرهای مورد استفاده، توالی نوکلئوتیدی، درجه چند شکلی و تعداد نوارهای تولید شده در ژنوتیپ‌های انگور مورد مطالعه

تعداد	نام آغازگر	توالی آغازگر (5′ - 3′)	درصد GC	تعداد کل نوارها	تعدا دنوارهای چندشکل	درصد نوارهای چندشکل
۱	B06	5′-TGCTCTGCCC-3′	۷۰	۱۱	۱۰	۹۰/۹۱
۲	B07	5′-GGTGACGCAG-3′	۷۰	۱۳	۱۳	۱۰۰/۰۰
۳	B14	5′-TCCGCTCTGG-3′	۷۰	۱۳	۱۳	۱۰۰/۰۰
۴	V15	5′-CAGTGCCGGT-3′	۷۰	۱۴	۱۳	۹۲/۸۶
۵	V17	5′-ACCGGCTTGT-3′	۶۰	۱۲	۸	۶۶/۶۷
۶	V20	5′-CAGACTGGTC-3′	۶۰	۱۵	۱۱	۷۳/۳۳
۷	X06	5′-AGGCCAGAGG-3′	۷۰	۱۲	۹	۷۵/۰۰
۸	X11	5′-GGAGCCTCAG-3′	۷۰	۱۵	۱۲	۸۰/۰۰
۹	X18	5′-GACTAGGTGG-3′	۶۰	۱۰	۸	۸۰/۰۰
۱۰	G02	5′-TGCTGCAGGT-3′	۶۰	۱۳	۱۲	۹۲/۳۱
۱۱	D16	5′-AGGGCGTAAG-3′	۶۰	۱۲	۱۰	۸۳/۳۳
۱۲	T04	5′-GTC CTCAACG-3′	۶۰	۱۲	۱۱	۹۱/۶۷
۱۳	OPF-02	5′-GGACACCACT-3′	۶۰	۷	۶	۸۵/۷۱
۱۴	OPG-11	5′-TGCCCGTCGT-3′	۷۰	۱۱	۱۱	۱۰۰/۰۰
۱۵	PHA-09	5′-GGTAGCAGTC-3′	۶۰	۱۴	۱۳	۹۲/۸۶
۱۶	PHA-02	5′-GGTCCTCAGG-3′	۷۰	۹	۸	۸۸/۸۹
۱۷	PHA-07	5′-CCACCGCCAG-3′	۸۰	۱۰	۹	۹۰/۰۰
۱۸	OPC-06	5′-GAACGGACTC-3′	۶۰	۱۳	۱۲	۹۲/۳۱
۱۹	OPC-16	5′-CACACTCCAG-3′	۶۰	۱۸	۱۸	۱۰۰/۰۰
۲۰	UBC746	5′-GGGTGTTGGG-3′	۷۰	۱۱	۹	۸۱/۸۲
۲۱	UBC792	5′-CAACCCACAC-3′	۶۰	۱۸	۱۴	۷۷/۷۸
۲۲	OPF-16	5′-GAAGTACTGG-3′	۵۰	۱۸	۱۸	۱۰۰/۰۰
۲۳	OPF-18	5′-TTCCCGGGTT-3′	۶۰	۱۸	۱۸	۱۰۰/۰۰
۲۴	OPF-19	5′-CCTCTAGACC-3′	۶۰	۱۶	۱۶	۱۰۰/۰۰
–	جمع	–	–	۳۱۵	۲۸۲	۸۹/۵۲

ثانیه در ۹۲ °C، ثانیه در ۳۶ °C، دو دقیقه در ۷۲ °C و مرحله پایانی با ۵ دقیقه در ۷۲ °C انجام شد. محصول واکنش پس از بارگذاری در ژل آگارز ۱/۲ درصد در بافر 1X TBE الکتروفورز گردید. محصول تفکیک شده با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و از الگوهای نواری در شرایط نور ماورای بنفش عکس‌برداری شد. وجود و عدم وجود نوار در الگوهای نواری با اعداد یک و صفر کدگذاری گردید. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از الگوریتم خوشه‌ای UPGMA و ضریب جاکارد در نرم افزار NTSYS-pc Ver 2.02 (۲۶) انجام شد. برای مشاهده و توصیف بهتر روابط ژنتیکی میان ارقام مختلف انگورتجزیه به

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]



شکل ۱. الگوی نواری محصولات تکثیری DNA ژنومی ۲۰ ژنوتیپ انگور با آغازگر B۱۴ در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استانداردهای وزن مولکولی Lane M : Ladder 100 bp ارقام(ژنوتیپ‌های) انگور به ترتیبی که در جدول ۱ لیست شده است.

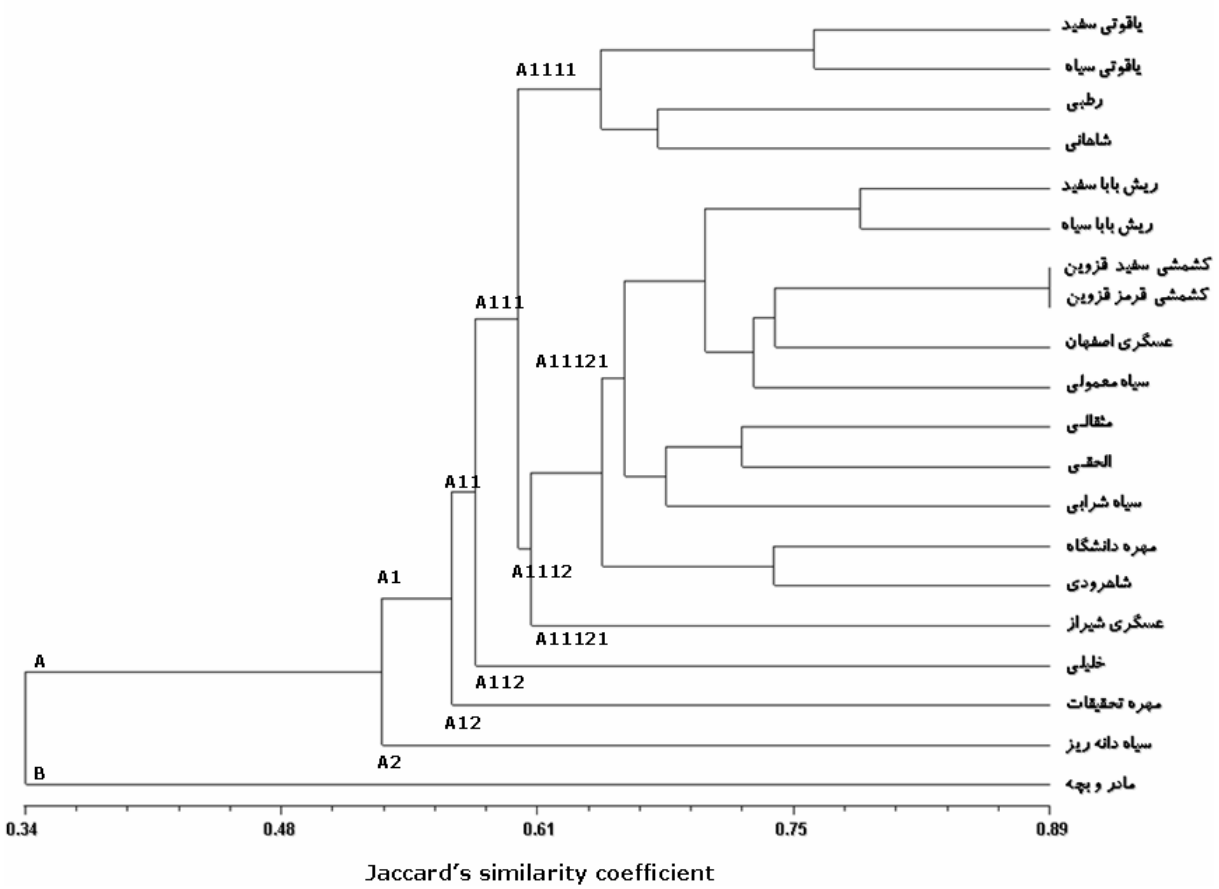
مؤلفه‌های اصلی(PCA) روی ماتریس تشابه صورت گرفت.

نتایج و بحث

بیست وچهار آغازگر در مجموع تعداد ۳۱۵ نوار در۲۰ ژنوتیپ انگور تکثیر کردند. در این آزمایش نشانگرهای RAPD درجه چند شکلی(۸۹/۵۲ در صد) بالایی نشان دادند. به‌عبارت دیگر از مجموع نوارهای تولید شده توسط ۲۴ آغازگر، ۲۸۲ نوار چند شکل و ۳۳ نوار تک شکل بودند (جدول ۲) که بدین وسیله همولوژی نوارهای RAPD با وزن مولکولی مشابه و جفت شدن (Hybridization) آغازگرها با DNA ژنومی تأیید گردید (۳۱). به‌طور متوسط به ازای هر آغازگر ۱۳ نوار تولید شد. اندازه نوارها در دامنه ۳۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز و بیشترین در صد(۱۰۰٪) و بیشترین تعداد نوار(۱۸) چندشکل مربوط به نشانگرهای OPC-۱۶، OPF-۱۶ و OPF -۱۸ و کمترین آن(۶) مربوط به آغازگر۲- OPF بود. در شکل ۱ الگوی نواری محصولات تکثیری DNA ژنومی ۲۰ ژنوتیپ انگور با آغازگرB۱۴ در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نشان داده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد این نتایج با یافته‌های سایر پژوهشگران در بررسی روابط ژنتیکی ارقام انگور گونه *V. vinifera* (۷ و ۲۴) و گیاهان دیگر مثل شبدر قرمز (۱۴)، سویا و بعضی از آلیوم‌ها (۳۷)، مطابقت دارد. داده‌های حاصل کارآیی نشانگرهای RAPD را در بررسی تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد. این نشانگر هنوز به دلیل سهولت در ارزیابی روابط ژنتیکی، وقت و هزینه کم، کاربرد فراوان دارد (۲۹). به‌هر صورت، ممکن است بعضی نوارها در الگوی نواریRAPD مربوط به تکثیر آلل‌ها نبوده و توالی‌های مشابه باشند، که این نتایج با گزارش‌های ویلکی و همکاران (۳۵) ویلیامز و همکاران (۳۷) مطابقت دارد. از طرف دیگر، مطالعات انجام شده در بعضی گونه‌های *Allium* و *Glycine* نشان داده است که همولوژی نوارهای comigrate در الگوی نواری نشانگرهایRAPD وجود دارد (۳۵ و ۳۷). به‌نظر می‌رسد استفاده از تعداد نسبتاً زیاد نشانگر با عث افزایش دقت گروه بندی ارقام می‌شود، اولانوسکی و همکاران (۳۳)، ارگول و همکاران (۷) و پینتوکارنای و همکاران (۲۴) نیز نتایج مشابهی را در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انگور با استفاده از نشانگرهای RAPD گزارش نمودند. در مطالعه حاضر شباهت ژنتیکی ارقام انگور با

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]



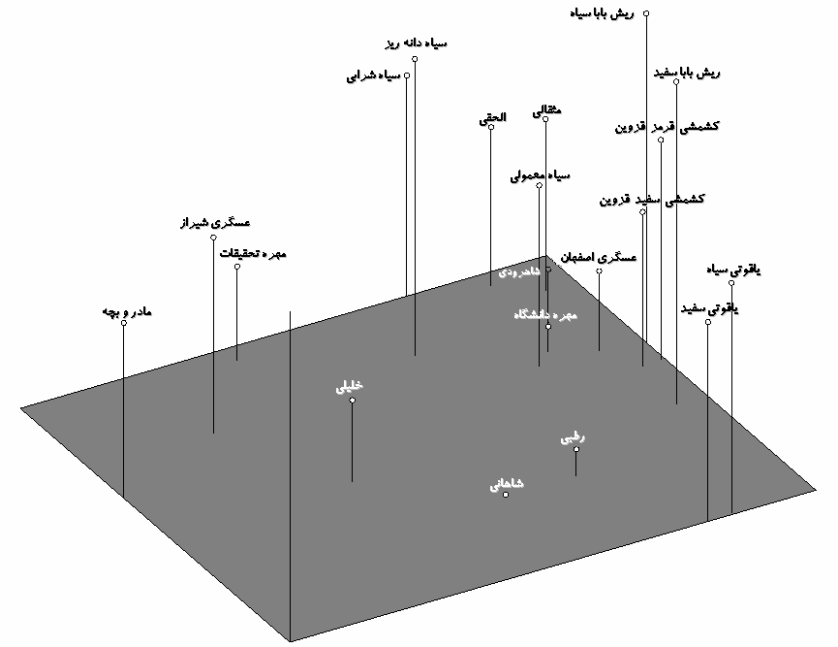
شکل ۲. گروه‌بندی ۲۰ ژنوتیپ انگور با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و آنالیز خوشه‌ای UPGMA

سه ضریب تطابق ساده، جاکارد و دایس محاسبه و با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج نشان دادند که روش جاکارد با ضریب کوفنتیک ۰/۹۲۴۶۲ مناسب‌ترین برآورد شباهت را برای گروه‌بندی ارقام انگور در این آزمایش داشت.

در این گروه‌بندی دامنه تشابه بین ژنوتیپ‌ها بر اساس ضریب تشابه جاکارد ۰/۸۸-۰/۳۴ بود. بیشترین تشابه بین ژنوتیپ‌های کشمشی سفید قزوین و کشمشی قرمز قزوین با ضریب تشابه ۸۸ درصد و کمترین تشابه بین ژنوتیپ‌های شاهانی و مادرو بچه با ضریب تشابه ۳۴ درصد است. قرابت ژنوتیپ‌های کشمشی سفید قزوین و کشمشی قرمز قزوین منطقی به‌نظر می‌رسد زیرا که این دو ژنوتیپ علی‌رغم رنگ متفاوت، از نظر صفات مورفولوژیک و صفات باغبانی تا حد زیادی یکسان و به‌طور غیر جنسی تکثیر می‌شوند (۱۰). اما اختلاف زیاد بین دو ژنوتیپ شاهانی و مادر و بچه نشان دهنده فاصله ژنتیکی زیاد این دو ژنوتیپ است. هر چند که این ارقام با توجه به اطلاعات تاکسونومیکی موجود، از یک جمعیت و متعلق به گونه اروپایی *V.vinifera* می‌باشند (۲۷). اما برخی مشخصات بارز مورفولوژیک نظیر عمق بریدگی‌های برگ (Sinus) و اسکلت خوشه (Rachis) در رقم مادر و بچه با ارقام دیگر به‌ویژه رقم شاهانی کاملاً متفاوت است. اما با توجه به این که صفات فنوتیپی از توارث پذیری پایین برخوردارند و هم‌چنین دارای کنترل زنتیکی نیز می‌باشند نسبت دادن ژنوتیپ مادر و بچه به گونه‌های دیگر جنس *Vitis* بدون در نظر گرفتن شرایط محیطی دشوار است. گره‌بندی حاصل (شکل ۲)، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این پژوهش در ضریب تشابه ۰/۳۴ از هم جدا و دریک گروه بزرگ با ۱۹ رقم و یک گروه با یک رقم قرار گرفتند. در گروه اول چهار زیر گروه شناسایی گردید. روند جداشدن تک رقم‌های سیاه دانه ریز، مهره تحقیقات و

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]



شکل ۳. تجزیه به مؤلفه‌های (PCA) بر اساس داده‌های نشانگر RAPD سه مؤلفه اولیه در مجموع ۶۰ در صد کل تنوع در سطح مولکولی را توجیه می‌کند.

خلیلی در ضرایب تشابه ۰/۵۳۲، ۰/۵۶۸ و ۰/۵۷۹ به ترتیب در زیرگروه‌های A کاملاً مشهود است. زیر گروه I شامل ژنوتیپ‌های یاقوتی سفید، یاقوتی سیاه، رطبی، شاهانی، زیر گروه II شامل ژنوتیپ‌های ریش بابا سفید، ریش بابا سیاه، کشمشی سفید قزوین، کشمشی قرمز قزوین، زیر گروه III شامل ژنوتیپ‌های مثقالی، الحقی، سیاه شرابی و زیر گروه IV شامل ژنوتیپ‌های مهره دانشگاه، شاهرودی بود. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از داده‌های RAPD نشان داد که سه مؤلفه اصلی فقط ۶۰ در صد از کل واریانس را توجیه می‌کنند. بدین مفهوم که نشانگرهایRAPD در این پژوهش در ژنوم پراکنده و در حال قابل قبولی توانسته‌اند ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را با روش تجزیه خوشه‌ای از هم تفکیک کنند (شکل۳). این نتایج با یافته‌های ارگول و همکاران (۷)، اولانوسکی و همکاران (۳۳) موافقت دارد. به‌طور کلی با توجه به نتایج این پژوهش و همسویی کامل آن با گزارش‌های سایر پژوهشگران در استفاده از نشانگرهای RAPD در شناسایی و تعیین ارتباط ژنتیکی ارقام گیاهان زراعی و باغی به‌ویژه ارقام انگور (۴، ۷، ۲۲، ۲۴ و ۳۲)، تأکید می‌نماید که تکنیک RAPD به عنوان یک تکنیک مولکولی ساده مبتی بر PCR و نسبتاً مطمئن و قابل اعتماد، می‌تواند به همراه معیارهای تاک نگاری (Amplography) در تعیین سطح تنوع ژنتیکی، تعیین روابط ژنتیکی و شناسایی ژنوتیپ‌های داخل گونه‌ای در گیاهان مختلف از جمله گونه *V. vinifera* استفاده شود(۷) و البته توصیه می‌گردد به دلیل تکثیر هم‌گروهی و یک‌نواختی زیاد ژنوتیپ‌های انگور از نشانگرهای مولکولی قوی تر که دارای چندشکلی زیاد و فراوانی بیشتر در ژنوم می‌باشند مانند SSR در شناسایی و ارتباط ژنتیکی کلون‌ها و ژنوتیپ‌های (ارقام) داخل و بین گونه‌ای استفاده شود.

سپاسگزاری

امکانات مالی اجرای این پروژه از محل اعتبارات ستاد فناوری‌های نوین استان اصفهان مستقر در دانشگاه صنعتی اصفهان تأمین گردیده است که بدین وسیله قدردانی و سپاسگزاری اعلام می‌دارد.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]

منابع مورد استفاده

۱. تفضلی، ع.، ج. حکمتی و پ. فیروزه. ۱۳۷۰. *انگور*. انتشارات دانشگاه شیراز.

2. Alsaghir, M.G. and D.M. Porter. 2006. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) study of study of *Pistachio* species (Anacardiaceae). Asian J. Plant Sci. 5(6) : 1002-1006.
3. Baradakci, F. 2001. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers.Turk. J. Bio. 25:185- 196.
4. Collins, G. G. and R. H. Symons. 1993. Polymorphism in grapevine DNA detected by the RAPD- PCR technique. Pl. Mol. Bio. Rep. 11:105-112.
5. Commbe, B.G.1992. Research on development and ripening of the grapeberry. Am. J. Enol. Vitic. 43:101-110.
6. Doyle, J.J.and J.L. Doyle.1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
7. Ergul, A.,B. Marshall and Y.S.Agaoglu. 2002. Molecular discrimination and identification of some Turkish grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) by RAPD markers. Vitis 41(3): 159-160
8. Fahzza,G.,G. Colonna, P. Resta and G. Ferrara. 1999. The effect of number of RAPD markers on evaluation of genotypic distances in *Vitis vinifera*. Euphytica 107:45-50.
9. Fanizza, G., R. Chaabane, L. Ricciardi and P. Resta. 2003. Analysis of a spontaneous mutant and selected clones of cv. Italia (*Vitis vinifera*) by AFLP markers. Vitis 42(1):27-30.
10. Galletta, G.J. and D.G. Himelrick.1990. Small Fruit Crop Management. Prentice & Hall, USA.
11. Gorgorcena, Y. S. Arulsekar, A.M. Dandekar and D.E. Parfitt. 1993. Molecular markers for grape characterization.Vitis 32 : 183-185.
12. Grando, M.S., L. DeMichelį A. Scienza. 1996. Characterization of *Vitis* germplasm using random amplified polymorphic DNA markers. Genet. Res. Crop. Evol. 43:187-192.
13. Isenegger,D. A., P. W.J. Taylor, R. Ford, P. Franz G. R. McGregor and J. F. Hutchinson. 2001. DNA fingerprinting and genetic relationships of potato cultivars (*Solanum tuberosum* L.) commercially grown in Australia. Aust. J. Agric. Res. 52: 911–918.
14. Kongkiatngam, R. M.J. Waterway, M.G. Fortin and B.E. Coulman.1995. Genetic variation within and between two cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.): comparisons of morphological, isozyme, and RAPD markers. Euphytica 84: 237-246.
15. Kulkami, M.and U. Deshpande. 2006. RAPD based Fingerprinting of tomato genotypes for identification of mutant and wild cherry specific markers. J. Plant. Sci. 1(3): 192-200.
16. Lai, J.A., W.C. Yang and Y.Hsiao. 2001. An assessment of genetic relationships in cultivated tea clones and native wild tea in Taiwn using RAPD and ISSR markers.Bot. Bull. of Acad. Sin. 42:93-100.
17. Lodhi, M.A. and B.I. Reisch. 1995. Nuclear DNA content of *Vitis* species, cultivars and other genera of the Vitaceae. Theor. Appl Genet. 90:11-16.
18. Lodhi, M. A., G.N. Ye, N. F. Weeden and B. I. Reisch. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, *Vitis* species and *Ampelopsis*. Plant Mol. Bio. Rep. 12(1): 6-13
19. Lodhi, M., M. Daly and G. Ye. 1995. A molecular marker based linkage map of *Vitis*. Genome 38:786-794.
20. Matsui,T., Y.Kosugi,T.Yanagi and H. Suzuki. 2002. Classification of oriental melon by RAPD analysis. Pak. J. Bio. Sci. 5(2): 208-211.
21. Meunier, J. R. and P. A. D. Grimont. 1993. Factors affecting reproducibility of random amplified polymorphic DNA fingerprinting. Res. in Microb. 144: 373–379.
22. Moreno, S., Y. Gogorcena and J.M. Ortiz. 1995.The use of RAPD markers for identification of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.). Sci. Hort. 62:237-243.
23. OIV.1983. C´odigo de los caracteres descriptivos de las variedades y especies de. Vitis. Dedon. A., Paris.
24. Pinto-Carnide, O., J. P. Martin, F. Leal, I. Castro, H. Guedes-Pinto and J. M. Ortiz. 2003. characterization of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars from northern Portugal using RAPD and microsatellite markers. Vitis 42(1): 23-25.
25. Rana, M. K. and K. V. Bhat. 2004. A comparison of AFLP and RAPD markers for genetic diversity and cultivar identification in cotton. J. Plant. Biochem. Biotechnol. 13:19-24.
26. Rohlf, F. J. 2001. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Pub. Ltd., Setauket, N.Y.
27. Roubelakis-Angelaki, K.A. 2001. Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine. Kluwer Academic Pub., The Netherlands.
28. Sefc, K.M., M. Regner, J. Glossl and H. Steinkellner. 1998. Genotyping of grapevine and rootstock cultivars using microsatellite markers. Vitis 37: 15-20.
29. Sharma, A., A. G. Namdeo and K.R.Mahadik. 2008. Molecular markers: New prospects in plant genome analysis. Pharm. Rev. 2(3):24-34.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]

30. Sitthiwang, K., T. Matsui, S. Sukprakarn, N.Okuda and Y. Kosugi. 2005. Classification of pepper (*Capsicum annum* L.) accessions by RAPD analysis. Biotechnology 4(4): 305-309.
31. Striem, M., G. B. Hayyim and P. Spiegel-Roy. 1996. Identifying molecular genetic markers associated with seedlessness in grape. J. Am. Soc. Hort. Sci.121:758-763.
32. Thomas, M. R., P. Cain and N.S. Scott. 1994. DNA typing of grapevines : a universal methodology and database for describing cultivars an evaluating genetic relatedness. Plant Mol. Bio. 25: 938-949.
33. Ulanovsky, S.,Y. Gogrcena, F. Martinez de Toda and J.M. Ortiz.2002.Use of molecular markers in detection of synonymies and homonymies in grapvines Sci. Hort. 92:241- 254.
34. Wang ,Y., J. Chen and J. Lu. 1999. Random amplified polymorphic DNA analysis of *Vitis* species and florida bunch grapes. Sci. Hort. 82: 85- 94.
35. Wilkie, S. E., P.G. Isaac and R.J. Slater. 1993. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in *Allium*.Theor. Appl Genet. 86:497-504.
36. Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S. V. Tingey. 1990. DNA poly-morphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Res. 18: 6531- 6535.
37. Williams, J.G.k., M.K. Hanafy, J.A. Rafalski and S.W. Tingey. 1993. Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. Methods Enzymol. 218:704-740.
38. Wunsch, A. and J. I. Hormaza. 2002. Identification and genetic fingerprinting to temperate fruit tree species using DNA markers. Euphytica 125:59-67.
39. Ye, G., G. Soylemezoglu and N. weeden. 1998. Analysis of the relationship between grapevine cultivars, sports and clones via DNA fingerprinting. Vitis 37:33-38.
40. Zebrowska, J.I. and M. Tyrka. 2003. The use of RAPD markers for strawberry identification and genetic diversity studies. Food Agric. Environ. 1(1): 115-117.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-07-02]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1387.12.45.52.4]