

مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۸، شماره ۴، سال ۱۳۹۱

تنوع ژنتیکی برخی از ارقام آلو (*Prunus spp.*) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی

Genetic Diversity in some Plum (*Prunus spp.*) Cultivars Using Morphological Characteristics and Molecular Markers

هانیه دارابی فرد^۱، ناصر بوذری^۲ و وحید عبدوسی^۳

۱-۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه علوم باغبانی، تهران

۲- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۱۴

چکیده

دارابی فرد، ه.، بوذری، ن. و عبدوسی، و. ۱۳۹۱. تنوع ژنتیکی برخی از ارقام آلو (*Prunus spp.*) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۸: ۶۶۱-۶۴۳.

هجده رقم آلو شامل ده رقم بومی ایران و هشت رقم وارداتی که در مرحله باردیگی کامل بودند بر اساس ۳۶ صفت مورفولوژیکی (پارامتریک و ناپارامتریک) و ۱۵ پرایمر RAPD مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجربه واریانس داده‌ها مشخص کرد که تفاوت بین ارقام در کلیه صفات به جز رنگ گلبرگ در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. ماتریس عدم تشابه مشخص کرد که دو رقم مشهد ۴ و دیررس سیف از نظر صفات کمی و ارقام آنتاریو و برینگ از نظر خصوصیات کیفی کاملاً از هم متمایز هستند. کلاستر حاصل از داده‌های مورفولوژیک در فاصله ۲۵، ارقام را به دو گروه اصلی تقسیم کرد، این کلاستر تا حدی توانست ارقام ایرانی و خارجی را از هم تفکیک کند. داده‌های مولکولی درصد باند پلی مورفسم بالایی (۹۹/۰۴٪) را مشخص کردند، ماتریس تشابه این داده‌ها بیشترین شباهت را بین ارقام امپروفانس و بخارای مرغوب (۷۱٪) و کمترین شباهت را بین ارقام شایرو و بخارای معمولی (۹٪) مشخص کرد. کلاستر به دست آمده از داده‌های مولکولی ارقام را در دامنه تشابه ژنتیکی از ۰/۱۵ تا ۰/۵۸ طبقه‌بندی کرد. ارقام در فاصله تشابه ۰/۲۶ به سه گروه اصلی تقسیم شدند که رقم دیررس سیف به تنهایی یک گروه مستقل را تشکیل داد و از سایر ارقام متمایز شد. در بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس صفات مورفولوژیک و پرایمر RAPD ارقام ایرانی و خارجی در بعضی از موارد به خوبی تفکیک شدند و در برخی موارد هم، با هم تفاوت‌های بارزی داشتند.

واژه‌های کلیدی: آلو، تنوع ژنتیکی، مارکر مورفولوژیک، RAPD.

مقدمه

آلو از گیاهان تیره گل‌سرخیان (Rosaceae)، از جنس درختان میوه هسته‌دار (Prunus) و یکی از میوه‌های مهم مناطق معتدله است (Janick and Moore, 1996). از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان آلو می‌توان به ایالات متحده، ایتالیا، ایران، ترکیه و چین اشاره کرد (Anonymous, 2011). ارقام آلو در سه مرکز با شرایط متفاوت آب و هوایی به وجود آمدند: اروپا (*P. domestica*)، آسیا (*P. salicina*) و آمریکا (*P. insititia*). آلوها از گونه‌های زیاد با طبقه‌بندی‌های متفاوت تشکیل شده‌اند (Usenik et al., 2008). در ایران بسیاری از ارقام آلو در نقاط مختلف کشت می‌شوند که تولید تجاری دارند اما برخی از ارقام بومی هم وجود دارند که با وجود خصوصیات منحصر به فرد به علت عدم شناخت کمتر مورد کشت قرار می‌گیرند. میزان تولید محاسبه شده برای این محصول در ایران در سال ۲۰۱۰ در حدود ۲۵۱۹۳۲ هکتوگرم بوده است (Anonymous, 2011). شاید بتوان گفت آنچه که سبب گسترش و تولید این محصول در سرتاسر جهان به ویژه ایران شده است، به خاطر ارزش غذایی این محصول است. آلوها منبع بسیار خوبی از ویتامین A، کلسیم، منیزیم، آهن، پتاسیم و فیبر هستند (Sestras et al., 2007)، همین‌طور منبع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های نئوکلروژنیک اسید (NeoChlorogenic acid) و کلروژنیک اسید

(Chlorogenic acid) هستند که در انسان خطر بیماری افزایش فشار خون را کاهش می‌دهند (Usenik et al., 2008). از طرفی آلو محصولی است که هم مصرف تازه‌خوری دارد و هم در صنایع تبدیلی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hakimi, 1996)، به عنوان مثال تولید آلو به صورت خشک سبب افزایش استفاده از آن در صنایع غذایی به ویژه صنعت شیرینی‌سازی شده است (Cinquanta et al., 2002). در دهه اخیر مصرف سرانه آلو در آمریکا و اروپا دارای روند ثابت و حتی در برخی موارد رو به کاهشی داشته است، شاید بتوان علت این امر را عدم معرفی ارقام جدید با خصوصیات متنوع (از نظر: طعم، کیفیت و غیره) برای این محصول دانست (Crisosto et al., 2006)، این مشکل با معرفی ارقام جدید مثل ارقام بومی ایران قابل حل خواهد بود. با بررسی صفات مورفولوژیکی می‌توان به بررسی تنوع در ارقام پرداخت به عنوان مثال در سال ۱۹۸۶ ویتکوسکی (Vitkovskii) تنها بر اساس شکل برگ آلو توانست یک هزار رقم آلو را در پنج تیپ اصلی طبقه‌بندی کند (Hakimi, 1996). بررسی‌های انجام شده روی خصوصیات مورفولوژیکی تعدادی از ارقام آلو در ناحیه بالکان حاکی از توانایی خصوصیات مورفولوژیکی در طبقه‌بندی ارقام آلو بود (Minev and Balev, 2009). اما طبقه‌بندی براساس صفات مورفولوژیکی یا همان خصوصیات ظاهری گیاهان در سال‌های اخیر

تحقیقات انجام شده بر روی بادام (Martins *et al.*, 2003)، نارگیل (Anuradha *et al.*, 2004)، گلابی (Kim *et al.*, 2005)، خرمالو (Masumim *et al.*, 2005)، هلو (Zhongping, 2007) و انبه (Faleiro *et al.*, 2010) اشاره کرد. بنا بر بررسی‌های انجام شده، در ایران تاکنون در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی ارقام آلو با استفاده از تکنیک RAPD کاری انجام نشده است. بر این اساس این پژوهش با هدف بررسی تنوع در ارقام ایرانی و تعدادی از ارقام خارجی آلو با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک و پرایمر RAPD و مقایسه نتایج آزمایش‌های مولکولی با نتایج به دست آمده از ویژگی‌های مورفولوژیک و بیان وجود یا عدم وجود رابطه معنی‌دار بین آن‌ها و تشابه بین بعضی از ارقام و ژنوتیپ‌های بومی و ارقام معرفی شده خارجی انجام شد.

مواد و روش‌ها

هجده رقم آلو شامل ارقام انتخابی بومی ایران و تعدادی از ارقام خارجی از باغ‌های کلکسیون آلو و گوجه مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کمال‌آباد و مشکین‌آباد که در مرحله باردهی کامل بودند انتخاب شدند. شناسایی تنوع ژنتیکی با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک و پرایمر RAPD انجام شد.

خصوصیات مورفولوژیک در دو گروه

به دلیل محدودیت این صفات در فراوانی و تنوع، توارث اثر غالب و مغلوبی، اثر اپیستازی و پلیتروپی، تاثیرپذیری از شرایط محیط و مرحله رشد و صرف زمان زیاد برای مشاهده و ثبت تعداد زیادی از این صفات خصوصاً در مورد گیاهان چند ساله کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Naghavi *et al.*, 2007)، از این رو با پیشرفت علوم زیست‌شناسی و پیدایش بیوتکنولوژی نوین و مهندسی ژنتیک برای مشخص کردن تفاوت‌های موجود در بین ارقام مختلف گیاهان از پرایمرهای مختلف مولکولی به همراه صفات مورفولوژیکی استفاده می‌شود (Abdossi *et al.*, 2008). در این تحقیق از پرایمر مولکولی RAPD به دلیل عدم نیاز به توالی DNA الگو، سادگی، هزینه کمتر در برابر سایر پرایمرها، نیاز به مقدار کم DNA و عدم تاثیرپذیری از محیط جهت بررسی‌ها استفاده شد. از این پرایمر در تحقیقات زیادی به منظور شناسایی تنوع ژنتیکی استفاده شده است از جمله در مورد تنوع ارقام آلوئی ژاپنی و کلون‌های آن (Boonprakob and Byrne, 2003)، انواع آلوهای ژاپنی، اروپایی، کانادایی، ارقام وحشی آلوئی اروپایی، گونه‌های آمریکایی و هیبریدهای بین آلو و زردآلو (Liu *et al.*, 2006)، آلوهای رومانی (Mitre *et al.*, 2009) و آلوهای تونسی (Tamarzizt Hende *et al.*, 2009) اشاره کرد. در مورد سایر درختان میوه هم می‌توان به

بررسی شدند. صفات کمی (صفاتی که قابل اندازه‌گیری بوده و دارای واحد سنجش هستند) و صفات کیفی (صفاتی که قابل اندازه‌گیری نبوده و از طریق کددهی و نمره‌دهی کیفیت را بیان می‌کنند و فاقد واحد سنجش هستند). به منظور بررسی تنوع مورفولوژیکی در مجموع ۳۶ صفت کمی و کیفی از برگ، میوه، شاخساره و گل براساس استاندارد ارائه شده توسط انجمن حفظ واریته‌ها و ارقام جدید گیاهی ارزیابی شد (Anonymous, 2009).

برای بررسی ژنتیکی، استخراج DNA از نمونه‌های برگ‌گی که در خرداد ماه ۱۳۸۸ از کلکسیون نهال و بذر کمال‌آباد از ارقام مورد بررسی جمع‌آوری و با کمک یخدان به فریزر (-70°C) مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه علوم و تحقیقات انتقال یافته بود انجام شد. استخراج DNA از بافت برگ با استفاده از روش تغییر یافته CTAB انجام شد (Doyle and Doyle, 1990). روش مورد استفاده برای تعیین کیفیت و کمیت DNA الکتروفورز بر روی ژل آگارز بود که با استفاده از این روش ضخامت باند، درخشندگی باند و یک تکه بودن باند با 1kb Ladder مقایسه شد. برای به دست آوردن مقدار DNA لازم برای هر واکنش غلظت‌های مختلف DNA مورد آزمایش قرار گرفت (۵، ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۱۰۰ نانوگرم) در نهایت از غلظت ۵ نانوگرم به میزان ۲ میکرولیتر در یک مخلوط واکنش ۲۵

میکرولیتری استفاده شد.

برای انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) از ۵۷ پرایمر ده نوکلئوتیدی استفاده شد، پس از الکتروفورز آن‌ها بر روی ژل آگارز ۱/۲٪، پانزده پرایمر که پلی مورفیسم بالایی داشتند، بهترین دمای اتصالشان به DNA الگو از طریق گرادیانت دمایی تعیین و در ارزیابی‌ها استفاده شدند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به حجم ۲۵ میکرولیتر بود که با دستگاه ترموسایکلر Corbett مدل CG1-96 انجام شد و واکنش‌های PCR با چرخه‌های حرارتی اعمال شد. در نهایت محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۲٪ تفکیک شده و با دستگاه ژل داگ (Gel document, UVP) از باندها عکس‌برداری شد، سپس نوارهای دارای چند شکلی در ارقام به صورت صفر و یک کددهی شدند.

نتایج و بحث

نام و کد ارقام آلود مورد بررسی در جدول ۱، صفات کمی و کیفی مورد استفاده برای ارزیابی ارقام آلود در جدول ۲، مواد لازم و مقدار آن‌ها برای تهیه محلول پایه PCR در جدول ۳، مشخصات پرایمرهای دارای پلی مورفیسم مورد استفاده در جدول ۴ و برنامه استفاده شده برای تنظیم دستگاه ترموسایکلر در جدول ۵ نشان داده شده است.

کلیه داده‌های مورفولوژیک و مولکولی ابتدا در نرم‌افزار Excel وارد شد. سپس شاخص‌های آماری، برای کلیه صفات

جدول ۱- ارقام آلوی مورد مطالعه
Table 1. Plum cultivars used in this study

کد	رقم	کد	رقم
Code	Cultivar	Code	Cultivar
C1	Mashhad 4	C10	Noliyana
C2	Gholaman	C11	KB19
C3	Barbang	C12	Ontario
C4	Bokharaye Mamoli	C13	Sorsiuo
C5	KB18	C14	Shiro Zard
C6	Bokharaye Marghob	C15	KB23
C7	Emprofrance	C16	Ren Cloud Bavi
C8	Shiro	C17	Dirras-e-Seif
C9	Ghatreh Tala	C18	Soltane Rezaeyeh

جدول ۲- صفات کمی و کیفی مورد استفاده برای ارزیابی ارقام آلو
Table 2. Quantitative and qualitative characteristics used for evaluation of plum cultivars

صفات (واحد)	مخفف	Characteristics (Unit)
	Abbreviations	
وزن ۱۰ برگ (گرم)	LW10	Leaf: Weigh of ten leaf (g)
طول پهنک (میلی متر)	LBL	Leaf blade: Length (mm)
عرض پهنک (میلی متر)	LBW	Leaf blade: Width (mm)
طول دمبرگ (میلی متر)	LLP	Leaf: Length of petiole (mm)
شدت رنگ سبز سطح پهنک (رتبه دهی)	LBIGCU	*Leaf blade: intensity of green color of upper side (Ranking)
شکل قاعده برگ (رتبه دهی)	LBSbB	*leaf blade: shape of base (Ranking)
زاویه انتهایی برگ به جز نوک پهنک (رتبه دهی)	LBAnA	*leaf blade: angel of apex (excluding tip) (Ranking)
طول نوک پهنک برگ (رتبه دهی)	LBLA	* Leaf blade: Length of apex (Ranking)
حاشیه پهنک برگ (رتبه دهی)	LBIM	*Leaf blade: incisions of margin (Ranking)
میزان موج دار بودن حاشیه پهنک (رتبه دهی)	LBunDM	*Leaf blade: undulation of margin (Ranking)
میزان رنگریزه آنتوسیانین سطح دمبرگ (رتبه دهی)	PAnCUp	*Petiole: anthocyanin coloration of upper side (Ranking)
قطر دمبرگ (میلی متر)	PDia	Petiole :diameter (mm)
اندازه غدد نوشجای سطح دمبرگ (رتبه دهی)	PSNe	*Petiole: size of nectarines (Ranking)
تعداد غدد نوشجای سطح دمبرگ (عدد)	PNNe	Petiole: predominant number of nectarines (Number)
نسبت طول پهنک به طول دمبرگ	Lb/Lp	Leaf: ratio Length of blade Length of petiole
میزان کلروفیل (CCI)	LBClo	leaf blade :Chlorophyll (CCI)
طول میانگره شاخه یکساله (میلی متر)	1YShLI	One-year-old shoot: Length of internodes (mm)
تعداد عدسک شاخه یکساله (رتبه دهی)	1YShNL	*One-year-old shoot: number of Lenticels (Ranking)
ضخامت در قسمت وسط شاخه یکساله (میلی متر)	1YShTM	One-year-old shoot: Thickness mid length (mm)
فرم درخت (رتبه دهی)	THab	*Tree habit (Ranking)
میزان رنگریزه آنتوسیانین نوک شاخه جوان در مدت رشد (رتبه دهی)	YShAnA	*Young shoot: anthocyanin Coloration of apex during rapid growth (Ranking)
کرک دار بودن نوک شاخه در مدت رشد سریع (رتبه دهی)	YShPA	*Young shoot: Pubescence of apex during rapid growth (Ranking)
ارتفاع درخت (سانتی متر)	THeg	Tree: height (cm)

Table 2. Continued

ادامه جدول ۲-

Characteristics (Unit)	مخفف Abbreviations	صفت (واحد)
Tree: Periphery of Trunk (cm)	TPTr	محیط تنه درخت (سانتی متر)
Tree: Diameter of Trunk (cm)	TDiaTr	قطر تنه درخت (سانتی متر)
TSS (%)	TSS	مواد جامد محلول میوه (درصد)
pH	PH	اسیدیته
TA (%)	TA	اسیدیته قابل تیتراسیون (درصد)
Flower: Weigh of ten Flower in papcorne stage (g)	FW10P	وزن ۱۰ گل در مرحله پاپکورن (گرم)
Flower: Diameter (mm)	FDia	قطر گل (میلی متر)
* Flower: Position of stigma relative to anthers (Ranking)	FPSA	وضعیت مادگی گل (رتبه دهی)
* Flower: Color of petal (Ranking)	FCoP	رنگ گلبرگ (رتبه دهی)
* Flower: Shape of petal (Ranking)	FShP	شکل گلبرگ (رتبه دهی)
* Flower: Pubescence of pistil (Ranking)	FPPi	کرک‌دار بودن مادگی (رتبه دهی)
* Flower: petiolate Length (Ranking)	FPL	طول دمگل (رتبه دهی)
* Time of flowering (Date)	TF	تاریخ گلدهی در مرحله تمام گل (روز)

جدول ۳- مواد لازم، غلظت پایه و مقدار هر یک برای تهیه محلول پایه PCR

Table 3. Materials, base concentration and the quantity of each one for preparing PCR base solution

مواد واکنش Reaction materials	غلظت پایه Base concentration	مقدار مورد نیاز برای یک محلول پایه Required quantity for a base solution (µl)
Primer	5 ng	1.5
dNTP Mix	0.2 mM	0.5
Taq DNA Polymerase	5 Unit.µl	0.2
PCR Buffer 10x	10 x	2.5
MgCl ₂	50 mM	0.9
DNA الگو	5 ng.µl	2.0
Injected water	-	17.4
Mineral oil	-	-
Total		25

ارقام براساس هر صفت مشخص شد (جدول ۶). بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰.۵٪ ارقام براساس هر صفت گروه‌بندی شدند (جدول ۷). تجزیه واریانس صفات پارامتریک با استفاده از نرم‌افزار SAS و به روش آنالیز واریانس یک طرفه با طرح

مورفولوژیک با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. از آنجا که اختلاف بین میانگین‌ها می‌تواند به عنوان شاخص تنوع به کار رود، این اختلاف محاسبه شد. مقایسه میانگین صفات پارامتریک به روش دانکن در سطح احتمال ۰.۵٪ در شرایط نرمال انجام شد و گروه‌بندی

جدول ۴- مشخصات و دمای اتصال پرایمرهای دارای پلی مورفیزم
 Table 4. Specifications and connection temperature of polymorphic markers

نام	توالی	نام شرکت	تعداد کل قطعات تکثیر شده (a)	تعداد قطعات چند شکل (b)	درصد چند شکلی (b/a)	دمای اتصال پرایمر	دمای بهینه اتصال پرایمریس از گرادیانت
Name	Sequence	Company name	Total number of generated fragments	Number of polymorphic fragments	% polymorphism (b/a)	Annealing(°c)	Optimum Annealing(°c)
MWG215	5'- TCA-CAC-GTG-C -3'	MWG	6	6	100	32	32
MWG203	5'- CAC-GGC-GAG-T -3'	MWG	7	6	85.7	34	34
13S	5'- CCT-GGG-TGG-A -3'	Sina gen	7	7	100	34	32
20S	5'- TCC-GGG-TTT-G -3'	Sina gen	9	9	100	32	32
MWG289	5'- ATC-AAG-CTG-C -3'	MWG	10	10	100	30	28
44S	5'- TTA-CCC-CGG-C -3'	Sina gen	11	11	100	34	33
RAPD1	5'- CCG-GCC-TTA-G -3'	Bebaten	11	11	100	34	32
MW3024	5'- TGG-GCT-CGC-T -3'	Fermentaz	11	11	100	34	36
MWG213	5'- CAG-CGA-ACT-A -3'	MWG	14	14	100	30	32
39S	5'- TTA-ACC-GGG-C -3'	Sina gen	15	15	100	32	30
MWG208	5'- ACG-GCC-GAC-C -3'	MWG	15	15	100	34	34
MWGM12	5'- GGG-ACG-TTG-G -3'	MWG	15	15	100	34	34
MWG283	5'- CGG-CCA-CCG-T -3'	MWG	16	16	100	34	32
MWgd7	5'- TTG-GCA-CGG-G -3'	MWG	18	18	100	34	34
MWG285	5'- GGG-CGA-CTA-G -3'	MWG	19	19	100	34	36

جدول ۵- برنامه دستگاه ترموسایکلر
Table 5. Thermocycler program

مرحله Stage	درجه حرارت Temperature(°c)	زمان Time	تعداد سیکل Cycle	Action type	نوع فعالیت
1	94	4'	1	Strand Separation	باز شدن دو رشته DNA
	94	1'		Denaturation	DNA تک رشته‌ای
2	Depends on primer	1'	35	Primer Annealing	اتصال پرایمر
		2':10s		Primer Extension	طولیل شدن پرایمر
3	72	5'	1	Extension Completion	تکمیل بسط

ساده صفات پارامتریک و غیر پارامتریک با نرم‌افزار SPSS محاسبه شد. داده‌های پارامتریک با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون و داده‌های ناپارامتریک با کمک ضریب همبستگی اسپیرمن بررسی شد، به عنوان مثال در مورد صفات پارامتریک در سطح ۰.۵٪، pH ($r=+0/55$) و TSS ($r=+0/58$) با وزن ۱۰ برگ همبستگی مثبت نشان دادند. در مورد صفات ناپارامتریک در سطح ۰.۵٪، میزان آنتوسیانین نوک شاخه با تعداد عدسک شاخه یک‌ساله ($r = 0/66$) همبستگی مثبت نشان دادند. در ادامه به کمک ماتریس عدم تشابه به روابط بین ارقام در دو بخش صفات پارامتریک و ناپارامتریک مشخص شد.

بر اساس این ماتریس رقم مشهد ۴ و دیررس سیف بنابر تفاوت بین صفات پارامتریک کاملاً از هم متفاوت بودند. ماتریس تفاوت به دست آمده بر اساس صفات ناپارامتریک مشخص کرد که رقم آنتاریووو برینگ از نظر تفاوت بین صفات ناپارامتریک کاملاً از هم متفاوت بودند. تجزیه به عامل‌ها از طریق نرم‌افزار SPSS با تکنیک واریانس انجام شد، در این

کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج مشخص کرد که تفاوت بین ارقام در کلیه صفات پارامتریک در سطح ۰.۱٪ معنی‌دار بود و می‌توان از این صفات در تجزیه و تحلیل‌های آماری استفاده کرد. تجزیه واریانس برای صفات ناپارامتریک با استفاده از نرم‌افزار SAS و با استفاده از آزمون کروسکال والیس و آزمون فریدمن (آزمون میانه، چون اختلاف داده‌ها براساس فاصله از میانگین است مبنای کار قرار گرفت) انجام شد. بر اساس نتایج این آزمون تمام صفات کیفی به جز رنگ گلبرگ در سطح ۰.۱٪ معنی‌دار شدند، به همین دلیل کلیه صفات ناپارامتریک به جز رنگ گلبرگ در مراحل بعدی برای تجزیه و تحلیل‌های آماری مورد استفاده قرار گرفتند.

از آن‌جا که سنجش یک صفت برای استفاده در کارهای به‌نژادی در مورد درختان میوه نیازمند صرف زمان و در نتیجه صرف هزینه است، لذا با استفاده از صفات دیگری که دارای همبستگی معنی‌دار بالایی با آن صفت هستند می‌توان آن صفات را به طور غیر مستقیم اندازه‌گیری کرد، بنابراین ضریب همبستگی

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات پارامتریک در ارقام آلو

Table 6. Mean comparison of parametric characteristics in plum cultivars

Cultivar	رقم	Lb.Lp	PDia	PNNe	LLP	LBW	LBL
Mashhad4	مشهد-۴	5.98ab	1.3b	2.59ac	14.19df	36.31bd	82.25a
Gholaman	غلامان	3.53g	0.99de	1.48fh	19.06ab	30.35ef	65.19df
Barbang	بربنگ	6.6a	0.98df	2.37ad	8.91i	23.85g	55.71fh
Bokharay Mamoli	بخارای معمولی	4.72cf	1.07cd	1.3h	15.66cd	30.99df	71.1be
KB18		3.58g	0.9df6	1.52fh	18.57ab	30.19ef	64.48ef
Bokharay Marghob	بخارای مرغوب	4.06eg	1.2bc	1.11h	19.95a	36.99bc	79.32ab
Emprofrance	امپروفرانس	5.03cd	0.9df	2.74a	11.88gh	25.79fg	58.67fg
Shiro	شایرو	4.8ce	0.94df	1.11h	13.31eg	29.61ef	62.6ef
Ghatreh Tala	قطره طلا	4.55cf	0.93df	2.7ab	12.57eh	30.36ef	56.19fh
Noliyana	نولیانان	6.42a	1.32b	2.07ce	11.73gh	44.01a	74.16ad
KB19		4.47df	0.86ef	2.19be	14.42de	32.21bd	63.24ef
Ontario	آنتاریو	3.95fg	1.55a	2.19be	17.54bc	39.33ab	68.55ce
Sorsiuo	سورسیو	4.5df	0.97df	1.74eg	12.01fh	21.66g	53.17gh
Shiro Zard	شایرو زرد	5.3bc7	0.95df	1.7eg	11.01h	25.99fg	57.75fg
KB23		3.92fg	0.8f	1.41fh	13.04eh	23.03g	49.73gh
Ren Cloud Bavi	رن کلود باوی	5.21cd	1.52a	1.93df	14.65de	38.25b	75.73ac
Dir rase Sife	دیررس سیف	3.93fg	0.86ef	1.0h	12.52eh	29.8ef	47.69h
Soltane Rezaeyeh	سلطان رضاییه	4.86ce	0.8ef	1.07h	10.85hi	31.77bd	51.25gh

برای نام ارقام به جدول ۱ و برای نام صفات (اختصارات) به جدول ۲ مراجعه شود.

For name of cultivars see Table 1 and for name of characteristics (abbreviations) see Table 2.

Table 6. Continued

ادامه جدول ۶-

Cultivar	رقم	LW10	FW10P	1YShLI	1YShTM	FDia	LBClo
Mashhad4	مشهد-۴	4.93bc	0.02df	14.88be	3.97bc	24.79ab	27.02ab
Gholaman	غلامان	2.68eh	0.02ab	21.33a	3.65bd	21.27dg	14.58fi
Barbang	بربنگ	2.02gh	0.02eg	15.73bd	3.90bd	24.77ab	18.58df
Bokharay Mamoli	بخارای معمولی	2.94dh	0.03a	19.26ab	4.86b	24.90a	17.47eg
KB18		3.53df	0.02bc	12.98cf	3.86bd	22.42af	19.47df
Bokharay Marghob	بخارای مرغوب	3.63de	0.02bd	14.57be	3.16cd	20.95eg	21.54ce
Emprofrance	امپروفرانس	2.33fh	0.01h	9.22fg	3.43bd	20.58fg	18.62df
Shiro	شایرو	2.35fh	0.01gh	9.68fg	3.46bd	23.90ac	11.48hi
Ghatreh Tala	قطره طلا	2.67eh	0.01h	10.89dg	2.46d	24.15ac	15.62fh
Noliyana	نولیانان	6.92a	0.03a	12.58cf	3.42bd	23.62ad	21.53ce
KB19		4.06cd	0.01h	14.66be	3.48bd	17.76h	23.33bd
Ontario	آنتاریو	5.93ab	0.02a	11.98cf	3.80bd	21.71cg	28.96a
Sorsiuo	سورسیو	2.62eh	0.02eg	10.11eg	3.68bd	21.17eg	15.59fh
Shiro Zard	شایرو زرد	1.51h	0.02ce	10.59eg	7.46a	23.07ae	16.37fg
KB23		1.54h	0.02fh	14.81be	3.43bd	20.00fh	10.67i
Ren Cloud Bavi	رن کلود باوی	5.62b	0.03a	15.87bc	3.84bd	19.86gh	24.82ac
Dir rase Sife	دیررس سیف	1.96gh	0.02gh	6.83g	3.35cd	22.39bf	17.08eg
Soltane Rezaeyeh	سلطان رضاییه	2.27gh	0.02bc	13.49cf	3.53bd	24.21ab	12.78gi

برای نام ارقام به جدول ۱ و برای نام صفات (اختصارات) به جدول ۲ مراجعه شود.

For name of cultivars see Table 1 and for name of characteristics (abbreviations) see Table 2.

جدول ۷- گروه‌بندی ارقام آلو بر اساس صفات مورفولوژیک و نتایج آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪

Table 7. Grouping of plum cultivars based on morphological characteristics and results of Duncan`s multiple range test at 5% probability level

صفات Characteristics	تعداد گروه بر اساس هر صفت Number of group corresponding to each character
LW10	8
LBL	8
LBW	7
LLP	9
PNNe	8
PDia	6
Lb/Lp	7
LBClo	9
1YShLI	7
1YShTM	4
FW10P	8
FDia	8

برای نام صفات (اختصارات) به جدول ۲ مراجعه شود.

For name of characteristics (abbreviations) see Table 2.

کلودباوی، بخارای مرغوب و KB23) قرار گرفتند.

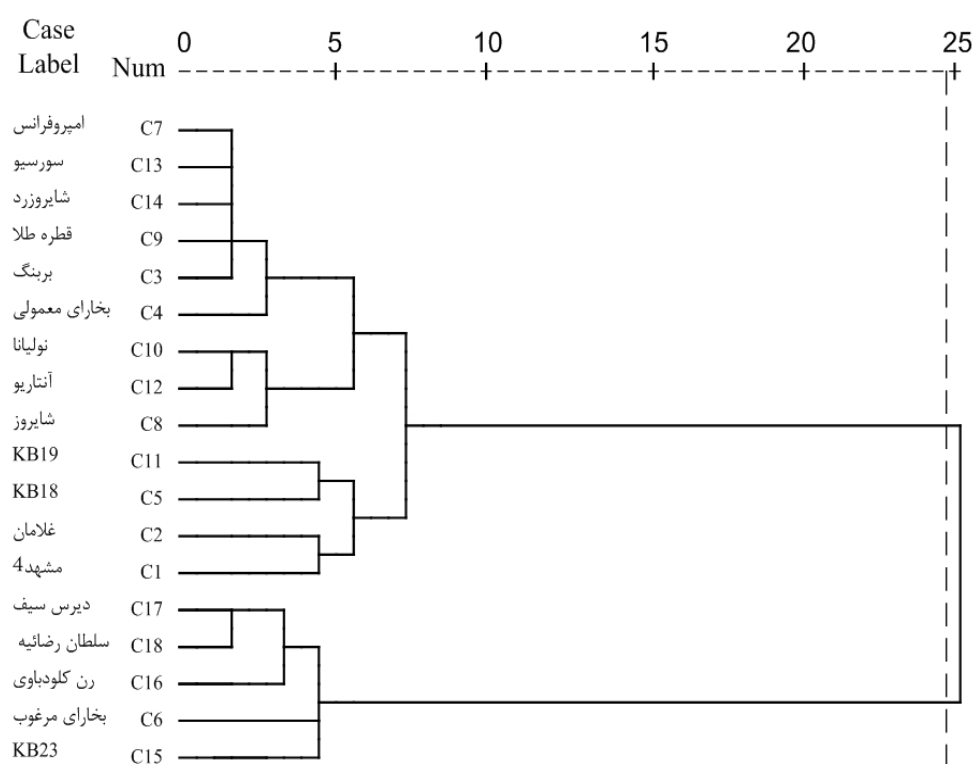
در مورد داده‌های مولکولی تعداد قطعات تکثیر شده با پرایمرهای مختلف متفاوت تشخیص داده شد، به طوری که بیشترین قطعه تکثیر شده، ۱۷ عدد و کمترین قطعه تکثیر شده، ۳ عدد شد. اندازه قطعات نیز در محدوده ۵۰۰ تا ۳۵۰۰ جفت باز مشخص شد. به منظور بررسی داده‌های مولکولی، حضور باند با عدد یک و عدم حضور باند با عدد صفر در نرم‌افزار Excel وارد شد سپس ماتریس تشابه بین ارقام به وسیله نرم‌افزار SPSS تعیین شد، بر اساس ماتریس تشابه به دست آمده، بیشترین شباهت بین رقم بخارای مرغوب و رقم امپروفرانس (۷۱٪) و کمترین شباهت بین رقم شایرو و بخارای معمولی (۹٪) مشخص شد. گروه بندی ارقام و رسم دندوگرام با استفاده از ضریب

راستا ابتدا مقادیر ویژه و عوامل مؤثر در واریانس کل محاسبه شد. سپس تجزیه به عامل‌ها انجام شد. بر اساس تجزیه انجام شده هشت عامل اصلی و مستقل که مقادیر ویژه آن‌ها بیشتر از یک بودند مجموعاً بیش از ۸۵٪ کل واریانس را توجیه کردند (جدول ۸). تجزیه کلاستر بر اساس نتایج تجزیه به عامل‌ها که بیشترین واریانس ۸۵٪ را در بین صفات دارا بودند به پنج کلاستر تقسیم شد. روش کلاستربندی بر اساس ماتریس فاصله و به روش Distance بود. کلاستر حاصل در فاصله ۲۵ ارقام را به دو گروه اصلی تقسیم کرد (شکل ۱). گروه اول در برگیرنده سیزده رقم با فواصل مختلف از هم شد (ارقام امپروفرانس، شایرو زرد، قطره طلا، برینگ، بخارای معمولی، نولیان، آنتاریو، شایرو، KB19، KB18، غلامان و مشهد ۴) و در گروه دوم پنج رقم (دیررس سیف، سلطان رضائیه، رن

جدول ۸- مقادیر ویژه و عوامل موثر در واریانس کل صفات مورد بررسی

Table 8. Eigen values and variance effective factors for all characters in this study

عامل Factor	مقادیر ویژه کل Eigen values	واریانس مقادیر ویژه به درصد Variance of Eigen values (%)	درصد واریانس تجمعی Cumulative variance (%)
1	8.332	24.506	24.506
2	5.085	14.955	39.461
3	3.667	10.785	50.245
4	3.177	9.343	59.588
5	2.808	8.26	67.848
6	3.343	6.893	74.741
7	2.151	6.328	81.068
8	1.636	4.812	85.88



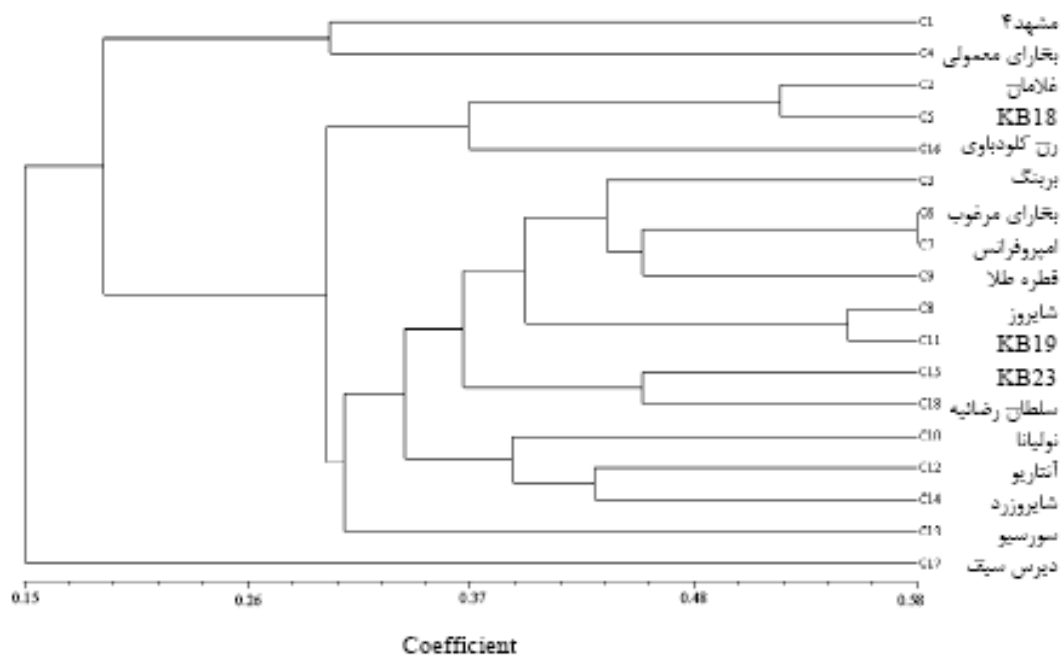
شکل ۱- گروه بندی ارقام آلوهای مورد مطالعه بر اساس صفات مورفولوژیکی به روش Ward

Fig. 1. Dendrogram of plum cultivars based on morphological characters with Ward method

For name of cultivars (c1-c18) see Table 1.

در دامنه تشابه ژنتیکی از 0/15 تا 0/58 متفاوت بود و ارقام در فاصله تشابه 0/26 به سه گروه اصلی تقسیم شدند، گروه اول شامل ارقام

تشابه جاگارد و روش UPGMA با استفاده از نرم افزار NTsys (ver.2.02e) انجام شد (شکل ۲). براساس کلاستر به دست آمده ارقام



شکل ۲- دندوگرام حاصل از داده های مارکرهای RAPD مربوط به ارقام آلودی مورد مطالعه به روش

UPGMA

Fig. 2. UPGMA dendrogram of plum cultivars based on RAPD Primers
For name of cultivars (c1-c18) see Table 1.

صفات مورفولوژیک همبستگی داشته باشند از رگرسیون گام به گام استفاده شد، در این تجزیه صفات مورفولوژیک به طور مجزا به عنوان متغیر وابسته و حضور و عدم حضور باند به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شد. در نهایت با استفاده از نرم افزار SPSS ضریب همبستگی بین خصوصیات مورفولوژیک و پرایمر RAPD محاسبه شد، این ضریب حدود ۲۸٪ بود و ارتباط بین صفات مورفولوژیک و داده های مولکولی در برخی موارد مشخص شد، علت پایین بودن میزان ضریب همبستگی می تواند ناشی از کم بودن داده های مورفولوژیک باشد.

از آن جا که سنجش یک صفت برای

مشهد ۴ و بخارای معمولی بود، گروه سوم رقم دیرس سیف و گروه دوم سایر ارقام را شامل شد.

در نهایت ارتباط بین صفات مورفولوژیک و الگوی باندهای پرایمر RAPD از طریق تجزیه رگرسیون با روش گام به گام و به منظور بررسی همبستگی بین صفات مورفولوژیک و پرایمرهای مرتبط با هر یک از صفات و تعیین بیشترین میزان R^2 (میزان همراهی هر صفت با مارکر) انجام شد.

هدف از شناسایی مارکر Informative پیدا کردن آللهایی است که با صفات مورفولوژیک همبستگی نشان داده اند. به منظور شناسایی پرایمرهایی که احتمال می رود با

با وزن ۱۰ برگ ($r=+0/88$)، وزن ۱۰ برگ با قطر دمبرگ ($r=+0/84$)، میزان کلرفیل با وزن ۱۰ برگ ($r=+0/75$)، ارتفاع درخت با محیط تنه ($r=+0/59$)، وزن ۱۰ گل با وزن ۱۰ برگ ($r=+0/594$)، وزن ۱۰ گل با عرض پهنک ($r=+0/594$)، وزن ۱۰ گل با قطر دمبرگ ($r=+0/649$) همبستگی وجود داشت. بنابر این با افزایش طول پهنک، عرض پهنک و قطر دمبرگ و در نتیجه با افزایش سطح برگ میزان کلروفیل بالا رفته بود. این امر به معنای افزایش فتوسنتز است که منجر به افزایش وزن گل می‌شود، که وجود گل‌هایی با وزن بالاتر یعنی افزایش تولید و عملکرد و چون این گل‌ها در برابر تنش‌های محیطی به دلیل داشتن مواد ذخیره بالاتر مقاوم‌تر هستند. از این ویژگی می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. براساس نتایج به دست آمده از تجزیه عامل‌ها مشخص شد که ۳۲ صفت مورد ارزیابی به صورت ۸ عامل اصلی (۸۵٪ واریانس) فرق‌گذار بین ارقام مورد بررسی بودند که در بین آن‌ها فاکتور اول و دوم بیشترین سهم را به خود اختصاص دادند و در مجموع ۴۵/۳۹ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. تجزیه کلاستر بر اساس نتایج تجزیه به عامل‌ها که ۸ عامل اصلی و مستقل که بیشترین واریانس را در بین صفات دارا بودند به ۵ کلاستر تقسیم نمود. تجزیه واریانس انجام شده روی کلاسترها مشخص کرد که صفات میزان رنگ‌ریزه آنتوسیانین نوک شاخه جوان در مدت رشد و ارتفاع درخت در بروز تنوع ارقام آلو نقش

استفاده در کارهای به‌نژادی در مورد درختان میوه نیازمند صرف زمان و در نتیجه صرف هزینه است، لذا با استفاده از صفات دیگر که دارای همبستگی معنی‌دار بالایی هستند می‌توان برای اندازه‌گیری غیرمستقیم آن صفات استفاده کرد. در این تحقیق در مجموع ۳۶ صفت پارامتریک و ناپارامتریک مورد ارزیابی قرار گرفت. بنا بر نظر عبدوسی و همکاران (Abdossi *et al.*, 2008) داده‌های مورفولوژیک بیشتر باشد، همبستگی بیشتری بین خصوصیات مورفولوژیکی و پرایمرهای مولکولی به دست می‌آید. بنابراین سعی شد تا تعداد بیشتری صفت مورد ارزیابی قرار گیرد. بنابر نظر میرمحمدی میدی (Mir Mohamadi Meybodi, 2004) اختلاف بین میانگین‌ها برای مقایسه تنوع کاربرد دارد و می‌تواند به عنوان شاخص تنوع صفات به کار رود. بررسی‌ها حاکی از وجود اختلاف بین میانگین‌ها بود. بر این اساس صفات دارای تفاوت مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند و تنها صفت رنگ گلبرگ که در تمام ارقام یکسان بود کنار گذاشته شد و مشخص شد که این صفت نمی‌تواند به عنوان شاخص تنوع در ارقام آلو به کار رود. میزان همبستگی ارقام آلو بر اساس ضرایب همبستگی محاسبه شد. در مورد صفات پارامتریک (ضریب پیرسون) نشان داد که صفات در سطح ۰.۱٪ دارای رابطه مثبت معنی‌دار بودند و از نظر منطقی نیز این ارتباط وجود دارد. طول پهنک با وزن ۱۰ برگ ($r=+0/72$)، بین عرض پهنک

(Tamarzizt *et al.*, 2009) نیز توانستند بر اساس صفات مورفولوژیک ارقام بومی و غیر بومی (ارقام وارداتی) آلوهای تونس را تا حد زیادی از هم تفکیک کنند. این پژوهش توانست بر اساس صفات مورفولوژیک به طبقه‌بندی ارقام آلو پرداخته که این امر توانایی صفات مورفولوژیک در طبقه‌بندی ارقام آلو را تایید می‌کند و با نظر ایکتانی و همکاران (Iketanii *et al.*, 1998)، دین کوآ و همکاران (Dinkova *et al.*, 2007)، سستراس و همکاران (Sestras *et al.*, 2007)، صدقت هور و همکاران (Sedaghatthoor *et al.*, 2009)، مینو و مینهو (Minev and Balev, 2009) در رابطه با توانایی طبقه‌بندی ارقام بر اساس صفات مورفولوژیک منطبق است. از آن‌جا که آلوها توانایی سازگاری با شرایط مختلف آب و هوایی در سرتاسر جهان را دارند (Sestras *et al.*, 2007) این احتمال وجود دارد که انتقال برخی از ارقام از یک منطقه به منطقه دیگر با تغییر در نام آن‌ها صورت گرفته و یا آن‌که دارای والدین مشترک باشند (Hayward *et al.*, 1993) در نتیجه از مارکر مولکولی RAPD برای تفکیک ارقام استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده از داده‌های مارکر RAPD ماتریس تشابه رسم شد. نتایج آن مشخص کرد که بیشترین شباهت بین رقم بخارای مرغوب با رقم امپروفرانس (۷۱٪) وجود داشت، از طرفی با توجه به محدوده

دارند تمارزیت و همکاران (۲۰۰۹) نیز با ارزیابی صفات مورفولوژیک مشخص کردند که صفات مربوط به میوه و رشد درخت به طور معنی‌داری در بروز تنوع ارقام آلو نقش دارند. در تجزیه کلاستر به دست آمده بر اساس صفات مورفولوژیک با کاهش فاصله از ۲۵ به ۵، ارقام به سه گروه اصلی تقسیم شدند در گروه اول ارقام امپروفرانس، سورسیو، شایروزرد، قطره طلا، برنگ، بخارای معمولی، نولینا، آنتاریو، شایرو، KB19، KB18 و غلامان، در گروه دوم رقم مشهد ۴ و در گروه سوم ارقام دیررس سیف، سلطان رضائیه، رن کلود باوی، بخارای مرغوب و KB23 قرار گرفتند. بر اساس این تفکیک ارقامی که دارای شباهت بیشتری به هم هستند در یک گروه قرار گرفتند. گروه اول خود به پنج زیر شاخه تقسیم شد، امپروفرانس، سورسیو، شایروزرد، قطره طلا، برنگ، بخارای معمولی در زیر شاخه اول، نولینا، آنتاریو، شایرو در زیر شاخه دوم، KB19 زیر شاخه سوم، KB18 زیر شاخه چهارم و غلامان زیر شاخه پنجم این گروه را تشکیل دادند. در گروه سوم سه زیر شاخه اصلی مشاهده شد، دیررس سیف، سلطان رضائیه و رن کلود در زیر شاخه اول، بخارای مرغوب زیر شاخه دوم و بنفش زیر شاخه سوم این گروه را تشکیل دادند. همان‌طور که از این تجزیه کلاستر مشخص است ارقام ایرانی از ارقام خارجی بر اساس صفات مورفولوژیک متمایز شده‌اند. تمارزیت و همکاران

نسبتاً وسیع تشابه ژنتیکی (0/58-0/15) تنوع بین ارقام وجود دارد که به علت وجود ارقام داخلی و خارجی با منشاءهای جغرافیایی مختلف است. همچنین احتمالاً وجود خود ناسازگاری در ارقام و تنش‌های محیطی که سبب بروز جهش در ساختار ژنوم گیاهی می‌شوند نیز سبب بروز تنوع می‌شود.

آیــــــــــــــــانگلو و همکاران (Ayanoglu *et al.*, 2007) نیز به این نتیجه رسیدند که تنوع در یک ناحیه اکولوژیکی خاص (وجود دامنه تشابه بین ارقام) باعث بروز گونه‌هایی با تنوع بیشتر می‌شود، از این جا مشخص می‌شود که محیط و منشاء جغرافیایی متفاوت در بروز تنوع موثر هستند. بررسی تنوع در یک ژرم پلاسما و مشخص شدن فاصله ژنتیکی افراد در برنامه‌های به‌نژادی بسیار با ارزش است زیرا در برنامه‌های به‌نژادی و دورگه‌گیری هر چه قدر فاصله ژنتیکی بین دو فرد بیشتر باشد با تلاقی آن‌ها امکان دستیابی به نتاج دارای برتری نسبت به والدین بیشتر است. پس از رسم دندوگرام در فاصله تشابه ۲۶ ارقام به سه گروه عمده تقسیم شدند، در گروه اول ارقام مشهد ۴ و بخارای معمولی، در گروه دوم ارقام غلامان، KB18، رن کلود باوی، برینگ، بخارای مرغوب، امپروفرانس، قطره طلا، شایرو، KB19، KB23، سلطان رضائیه، نولیان، آنتاریو، شایروزرد و سورسیو و در گروه سوم رقم دیررس سیف قرار گرفتند. همان‌طور که مشخص است ارقام ایرانی در گروه اول و سوم جای گرفتند و برخی از ارقام خارجی با ارقام

ایرانی در گروه دوم قرار گرفتند که این امر می‌تواند ناشی از وجود منشاء ژنتیکی مشترک بین این ارقام باشد یا ناشی از انتقال ارقام از یــــــــــــــــام از یــــــــــــــــک منطقه به منطقه دیگر با تغییر در نام آن‌ها باشد. شــــــــــــــــیمادا و همکاران (Shimada *et al.*, 1999) کیااو و ژانگ (Qiao and Zhang, 2003) با استفاده از مارکر RAPD توانستند تفاوت بین آلوهای اروپایی و آلوهای ژاپنی را مشخص کنند. لیوو همکاران (Liu *et al.*, 2006) و لیسک و همکاران (Lisek *et al.*, 2007) با استفاده از مارکر RAPD درجه بالایی از تنوع ژنتیکی موجود درون ژرم پلاسما آلوهای مورد مطالعه شان را مشخص کردند. که این نتایج با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد. در بررسی تنوع ژنتیکی بر اساس صفات مورفولوژیک و داده‌های مولکولی ارقام ایرانی و خارجی آلو گاهی به خوبی تفکیک شدند و در برخی حالات هم با هم تفاوت‌های بارزی داشتند به عنوان مثال ماتریس تشابه و دندوگرام رسم شده بر اساس داده‌های مولکولی دو رقم سلطان رضائیه و بخارای معمولی کاملاً از هم تفکیک شدند. این تفکیک با طبقه‌بندی ارقام بر اساس داده‌های مورفولوژیک نیز مطابقت داشت اما در برخی موارد تفکیک ارقام ایرانی و خارجی بر اساس داده‌های مورفولوژیک و مولکولی با هم مطابقت نداشت. این امر در مورد دو رقم بخارای مرغوب و امپروفرانس مصداق پیدا کرد. این دو رقم بر اساس داده‌های

می‌تواند به عنوان ابزاری سودمند در بررسی تنوع ژنتیکی به کار رود که با نظر تامارزیت و همکاران (Tamarzizt *et al.*, 2009) برای بررسی تنوع ژنتیکی ارقام تطابق دارد. به طور کلی نتایج این تحقیق مشخص کرد ارقام ایرانی از ارقام خارجی جدا هستند و به برخی از ابهامات در ارتباط با یکی بودن ژنویپ‌های این ارقام پاسخ داد.

سپاسگزاری

از مسئولین موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج برای فراهم کردن نمونه‌های گیاهی تشکر می‌شود. و همچنین از آقای دکتر قاضی‌زاده برای تجزیه و تحلیل آماری تشکر می‌شود.

References

- Abdossi, V., Fatahi Moghadam, R., and Bouzari, N. 2008. Analysis of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using some morphological characters and SSR markers. MSc. Thesis, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. 130pp. (in Persian).
- Anonymous, 2009. <http://www.upov.int/en>.
- Anonymous, 2011. faostat. Fao. Org.
- Anuradha, U., Jayadev, R., Manimekalai, R., and Parthasarathy, V. A. 2004. Genetic relationship and diversity in Indian coconut accessions based on RAPD markers. *Scientia Horticulturae* 99: 353-362.
- Ayanoglu, H., Bayazit, G., Inan, M., Bakir, A.E., Akpinar, K., Kazan, E., and A., Ergul. 2007. AFLP analysis of genetic diversity in Turkish green plum (*Prunus Cerasifera* L.) adapted to the mediterranean region. *Science Direct* 114: 263-267.
- Boonprakob, U., and Byrne, D. H. 2003. Species composition of Japanese plum

مولکولی دارای بالاترین میزان شباهت (۰.۷۱) بودند، در حالی که از نظر مورفولوژیک در دو گروه متفاوت از هم قرار گرفتند، این امر می‌تواند به این علت باشد که خصوصیات مورفولوژیک توسط نقاط محدودی از ژنوم کنترل می‌شود و نتوانسته است با پرایمر RAPD مورد تفکیک قرار گیرد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که همبستگی کمی میان این دو وجود داشته است. با هر صفت چندین پرایمر همبستگی نشان دادند، اما در نهایت پرایمری که بیشترین میزان R^2 (میزان همراهی هر پرایمر با صفت) را داشت به عنوان موثرترین پرایمر برای آن صفت معرفی شد. نتایج نشان داد که تجزیه کلاستر بر اساس داده‌های مولکولی در برخی حالات بر تجزیه مورفولوژیک منطبق است و بررسی همزمان صفات مورفولوژیکی و مارکر RAPD

- founding clones as revealed by RAPD markers. *Acta Horticulturae* 622: 437-441.
- Cinquanta, L., Di Matteo, M., and Esti, M. 2002.** Physical pre-treatment of plum (*Prunus domestica*). Part 2. effect on the quality characteristics of different prune cultivars. *Science Direct* 79: 233-238.
- Crisosto, C., Crisosto, M., Echeverria, G., and Jayme, P. 2006.** Segregation of plum and pluot cultivars according to their organoleptic characteristics. *Science Direct* 83: 271-276.
- Dinkova, H., Minev, I., and Sto yanova, T. 2007.** Vegetative and reproductive characteristics of plum cultivar Cacanska Rodna in Troyan regin. *Journal of Pomology* 41: 41-44.
- Doyle J. J, and Doyle, J. L. 1990.** Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Faleiro, F. G., Pinto, A. C. Q., Cordeiro, M. C. R., Ramos, V. H. V., Bellon, G., Andrade, S. R. M., and Pinto, J. F. N. 2010.** Genetic variability of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars used in the embrapa cerrados breeding program using RAPD markers. *Acta Horticulturae* 864: 93-98.
- Hakimi, J. 1996.** Training of Apricot ,Plum and Prune. *Jahad-e-Daneshgahie West Azarbayjan, Orumieh, Iran*(in Persian).
- Hayward, M. D., Bosemark, N. O., and Romagosa, I. 1993.** *Plant Breeding, Principals and Prospects.* Chapman & Hall, London. 550pp.
- Iketani, H., Manabe, T., Matsuta, M., Akihama T., and Hayashi, T. 1998.** Incongruence between RFLP of chloroplast DNA and morphological classification in east asian Pear (*Pyrus* spp.) *Genetic Resources and Crop Evolution* 45: 533-539.
- Janik, J., and Moore, J. 1996.** *Fruit Breeding, Trees and Tropical Fruits.* John Wiley and Sons Press, New York, 632 pp.
- Kim, C. S., Park, Lee, C. H., Kang, K. W., Shin, S. J., and Lee, G. P. 2005.** Phylogenetic relationship among *Pyrus pyrifolia* and *P. communis* detected by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) and conserved rDNA sequences. *Scientia Horticulturae* 106: 491-501.
- Lisek, A., Korbin, M., Rozpara, E., and Żurawicz E. 2007.** Plum cultivar DNA polymorphism generated with RAPD and ISSR markers. *Acta Horticulturae* 734 : 281-285.
- Liu, W. S., Liu, D. C., Feng, C. J., Zhang, A. M., and Li, S. H. 2006.** Genetic

- diversity and phylogenetic relationship in plum germplasm resources revealed by RAPD Markers. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81 : 242-250.
- Martins, M., Tenreiro, R., and Oliveira, M. M. 2003.** Genetic relatedness of portuguese almond cultivars assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant Cell Reports* 22 : 71-78.
- Masumim Y., Shigehito, M., Akira, N., and Hiroyuki, I. 2005.** Identification of persimmon (*Diospyros kaki*) cultivars and phenotic relationships between diospyros species by more effectiv RAPD analysis. *Scientia Horticulturae* 105: 283-290.
- Minev, I., and Balev, M. 2009.** Morphological and biological characteristics of plum forms of the cultivar type of Kyustendilska Sinya Sliva. *Acta Horticulturae* 825: 165-168.
- Mir Mohamadi Meybodi, S. A. M. 2004.** Horticultural Plant Breeding. Isfahan University of Technolog Press, Isfahan, Iran (in Persian).
- Mitre, V., M., Ardelean, I., Mitre, Pop, R., Lukacs, L., and Cordea, M. 2009.** Genotypic variability of several plum cultivars grown in Transylvania evaluated by means of RAPD analysis. *Bulletin UASVM Horticulture* 66(1): 79-83.
- Naghavi, M, R., Gharehyazi, B., and Hossini Salkadeh, G. 2007.** Molecular Markers. Tehran University Press, Tehran, Iran. 334 pp. (in Persian).
- Qiao, Y. S., and Zhang, Z. 2003.** Analysis of genetic diversity of Japanese plum cultivars based on RAPD, ISSR and SSR markers. *Plant Genomics in China* 17: 42.
- Sedaghatoor, S., Ansari, R., Allahyari, M. S., and Nasiri, E. 2009.** Comparison of morphoholical characteristics of some plum and prune cultivars of Iran. *Scientific Research and Essay* 4 (10): 992-996.
- Sestras, R., Botu, M., Mitre, V., Sestras, A., and Rosu-Mares, S. 2007.** Comparative study on the response of several plum cultivars in central Transylvania conditions, Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 35: 69-75.
- Shimada, T., Hayama, H., Yamaguchi, M., and Yoshida, M. 1999.** Genetic diversity of plums characterized by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Euphytica* 109: 143-147.
- Tamarzizt Hend, B., Ghada, B., Sana, B. M., Mohamed, M., Mokhtar, T., and Amel, S. H. 2009.** Genetic relatedness among tunision plum cultivars by random amplified polymorphic DNA and evaluation of phenotypic characters. *Science Direct* 121: 440-446.

- Usenik, V., Kastelec, D., Veberic, R., and Stampar, F. 2008.** Quality changes during ripening of plums (*Prunus domestica*). Science Direct 111: 830-836.
- Zhongping, C. 2007.** Genetic characterization of different demes in *Prunus persica* revealed by RAPD markers. Scientia Horticulturae 111: 242-247.