

بررسی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسماهای انگور سیستان با استفاده از نشانگر IRAP

Investigating the genetic variation in the collection germplasm Sistan grapevine cultivars using IRAP marker

سمیه خونرز^۱، براتعلی فاخری^{۱*}، مسیح فروتن^۱، حسین کمال‌الدینی^۱

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیاران، دانشگاه زابل، ایران

Khunraz S¹, Fakheri BA^{*1}, Forootan M¹, Kamal Aldini H¹

1. MSc Student, Associate Professor, Assistant Professors, Zabol University, Zabol, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Fakheri@uoz.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۵)

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انگور سیستان، ۳۳ رقم انگور (*Vitis vinifera* L) ایستگاه تحقیقاتی زهک توسط ۱۰ آغازگر مبتنی بر رتروترانسپوزون از خانواده *Ty1-copia* و *Ty3-gypsy* مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان چندشکلی مشاهده شده در هر کدام از نشانگرهای *Gret1F.Ra*، *Gret1F.Rb*، *Vine1Fb* و *Gret1Rb* به ترتیب ۵۴/۵، ۸۳/۰، ۸۵/۷ و ۸۵/۷ درصد بود. نتایج حاصل، این احتمال را تقویت کرد که رتروترانسپوزون *Gert1* در فرایند تکامل گیاهان مورد تحقیق بیشتر جابجا شده و تعداد نسخه‌های بیشتری را داخل ژنوم تکثیر کرده است. تجزیه کلاستر بر اساس الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه جاکارد ارقام مورد مطالعه را در ضریب تشابه ۰/۲۴ به یک گروه بزرگ با ده زیر گروه و یک گروه کوچک با دو رقم تقسیم کرد. بیشترین تعداد آلل مؤثر و بیشترین تنوع با میزان شاخص شانون ۰/۶۵۶۵ مربوط به آغازگر *VinF.b* و کمترین تعداد آلل مؤثر و کمترین تنوع با میزان شاخص شانون ۰/۴۲۲۶ به ترتیب مربوط به آغازگرهای *Gret1R.a* و *VineF.R.b* بود. نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی، نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تایید کرد و ۶ مختصه استخراج کرد که در مجموع ۴۵/۵ درصد از تغییرات کل جامعه مورد مطالعه را توجیه کردند.

واژه‌های کلیدی

انگور
تنوع
رتروترانسپوزون
IRAP

مقدمه

انگور (*Vitis vinifera* L.) دارای تنوع ژنتیکی بالا در بین ارقام و زیرگونه‌های وحشی و هیبرید است (D'Onofrio et al. 2010). ایران به عنوان یکی از مراکز پیدایش و پراکنش انگور در جهان از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است (Sabeti 1976). شناسایی ارقام انگور معمولاً براساس مشخصات تاک‌نگاری گیاه بالغ صورت می‌گیرد که تحت تأثیر محیط قرار دارد. رویکرد جایگزین بکارگیری از نشانگرهای مولکولی در تعیین تنوع و روابط ژنتیکی گیاهان باغی می‌باشد (Ghobadi et al. 2008). امروزه با استفاده از اطلاعات بدست آمده از روش‌های مولکولی تعیین روابط ژنتیکی بین ارقام، شناسایی والدین برای تلاقی، تهیه نقشه‌های ژنتیکی و تعیین ارتباط ژنتیکی بین انگورهای وحشی و زراعی امکان‌پذیر شده است (Dettweiler and Eibach 2003). تنوع مبنای گزینش فنوتیپی و ژنوتیپی و اساس اصلاح کمی و کیفی محصولات کشاورزی است. آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی ضمن حفاظت از ذخایر ژنتیکی، قابلیت استفاده از آنها را در برنامه اصلاحی امکان‌پذیر می‌سازد (Ghareyazi 1998). تعیین سطح تنوع ژنتیکی و حفظ آن در یک گونه گیاهی علاوه بر حفاظت گیاهی، در برنامه‌های به‌نژادی نیز حائز اهمیت است. کلید موفقیت هر برنامه به‌نژادی بر وجود تنوع ژنتیکی استوار است (Martinez et al. 2006). حذف تنوع ژنتیکی در توده‌های بومی و تولید ارقام یکنواخت، آینده را به خطر می‌اندازد. (Ghasemi 1999). تنوع ژنتیکی، قابلیت بقای یک گونه و یا جمعیت را از طریق ایجاد توانایی سازگاری با تغییرات محیطی فراهم می‌کند. بنابراین، تنوع ژنتیکی برای بقای طولانی‌مدت یک گونه ضروری است (Bataillon et al. 1996). بسیاری از عوامل تکاملی بر میزان و پراکنش تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌ها و در نتیجه اختلاف جمعیت‌ها تأثیر گذارند (Felsenstein 1985). نشانگرهای مولکولی به طور مستقیم قادرند پراکندگی و تنوع ژنتیکی را تشخیص دهند (Ferguson et al. 1995). رتروترانسپوزون‌ها عناصر اصلی متحرک در ژنوم گیاهان هستند و از طریق یک RNA حدواسط در ژنوم جابجا می‌شوند (Flavell et al. 1992) و به عنوان عناصر جابجا شونده بخش بزرگی از هسته ژنوم گیاهان را تشکیل می‌دهند (Jianxin et al. 2004 ;).

(Flavell 1986). رتروترانسپوزون‌ها به دو گروه مجزا از هم تقسیم می‌شوند: عناصر با دو انتهای تکراری طولانی (¹LTR) و عناصر بدون انتهای تکراری طولانی (Shimamura et al. 1997). رتروترانسپوزون‌های بدون LTR به دو دسته ²LINES و ³SINES تقسیم می‌شوند (D'Onofrio et al. 2010). رتروترانسپوزون‌های LTR دار نیز به دو گروه *Ty1-copia* و *Ty3-gypsy* طبقه‌بندی می‌شوند (Boeke and Corces 1989 ; Doolittle et al. 1989). رتروترانسپوزون‌های LTR دار بسیار فراوان‌تر از رتروترانسپوزون‌های بدون LTR هستند (D'Onofrio et al. 2010). این دو گروه هم در میزان شباهت توالی‌هایشان و هم در نوع ژن‌هایی که کد می‌کنند با همدیگر متفاوت هستند. *Ty1-copia* در کل سلسله گیاهی (جلبک‌های تک سلولی، بیوفیت‌ها، نهاندانگان و بازدانگان) و *Ty3-gypsy* نیز به طور گسترده هم در نهاندانگان و هم در بازدانگان وجود دارد (Errika et al. 2004). اختلاف این دو گروه از رتروترانسپوزون‌ها در ترتیب ژن‌های *Pol* و *Int* آنها می‌باشد. رتروترانسپوزون‌های گروه *Ty3-gypsy* با دریافت ژن *env (envolp)* به رتروویروس‌های حیوانی تبدیل می‌شوند ولی رتروترانسپوزون‌های *Ty1-copia* فاقد ژن *env* می‌باشند و تصور می‌شود که خاصیت آلوده‌کنندگی نداشته باشند (Kumar and Bennetzen 1999).

الحاقات رتروترانسپوزون‌ها یک حادثه بیولوژیکی است، یعنی رتروترانسپوزون‌ها در گیاهان مختلف تحت تأثیر تنش‌های زنده و غیرزنده فعال شده و در ژنوم جابجا می‌شوند (Grandbastien 1998) و به این روش، تولید موتاسیون‌های زیادی در ژنوم می‌کنند و میزان بیان ژن‌های اطراف ناحیه الحاق را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به همین دلیل نقش بسیار مهمی را در تکامل بازی کرده‌اند (Shapiro 1999). الحاق رتروترانسپوزون‌ها غیرقابل برگشت بوده در واقع حضور یک رتروترانسپوزون در یک ناحیه خاص از ژنوم حاصل یک حادثه بیولوژیکی بوده که در طول تاریخ تکاملی گیاه روی داده‌است (Shapiro 1999). از نشانگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزون در انگور به منظور دستیابی

¹ Long terminal repeat² Long Interspersed Element³ Short Interspersed Elements

صورت گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز یک درصد و روش اسپکتوفوتومتری انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس برای هر نمونه DNA استخراجی مربوط به ارقام مورد بررسی با استفاده از ۱۰ آغازگر رتروترانسپوزونی گزارش شده توسط (D'Onofri et al. 2010) به صورت منفرد و جفتی صورت گرفت. هر ۱۰ آغازگر به صورت منفرد و ۴ آغازگر به صورت ترکیب استفاده شد (جدول ۲). اجزا واکنش زنجیره‌ای پلیمراس در حجم نهایی ۲۵ μl شامل ۱۲/۵ μl Master mix، ۰/۵ مینیم کلرید، ۷۰ ng DNA و ۰/۵ mM از هر آغازگر با هم مخلوط شدند. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر T Gradient Biometra مدل RS 232 انجام شد. چرخه حرارتی مورد استفاده شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه در ۹۴°C به مدت دو دقیقه، مرحله دوم شامل ۳۵ چرخه که هر چرخه شامل واسرشته‌سازی در ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله اتصال آغازگرها به رشته الگو بسته به نوع آغازگر ۵۶-۵۰°C (جدول ۲) به مدت ۳۰ ثانیه، بسط اولیه در ۷۲°C به مدت دو دقیقه و بسط نهایی بعد از اتمام ۳۵ چرخه در ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه بود. پس از آن نمونه‌ها تا زمان بارگذاری روی ژل در دمای ۲۰°C نگهداری شدند. پس از انجام واکنش PCR، محصول واکنش بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری و در بافر 1X TAE الکتروفورس و با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد. وجود و عدم وجود باند در الگوی باندها با اعداد یک و صفر کدگذاری شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار NTSYS 2.0 و PopGen 32 تجزیه شد. سه ضریب تشابه ساده، دایس، جاکارد محاسبه و دندروگرام با استفاده از الگوریتم خوشه‌ای UPGMA با استفاده از ضریب تشابه جاکارد به دلیل بالاترین ضریب کوفتیک با استفاده از نرم‌افزار NTSYS 2.0 ترسیم شد. تعداد آلل موثر $N_e = \frac{1}{\sum p_i^2}$ ، فراوانی آلل آغازگر i ام (Kimura and Crow 1964)، تعداد آلل واقعی نمونه و شاخص شانون با فرمول $SI = -\sum p_i \log p_i$ که در آن p_i فراوانی باند i ام نمونه است (Shannon and Weaver, 1949) با استفاده از نرم‌افزار PopGen 32 محاسبه شد. برای مشاهده و توصیف بهتر روابط ژنتیکی میان ارقام مختلف انگور تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) روی ماتریس تشابه صورت گرفت.

به نتایج مختلفی استفاده شده‌است که می‌توان به تعیین چندشکلی توالی ویژه بر مبنای رتروترانسپوزون‌های vine1 در ارقام *Vitis vinifera* (Labra et al. 2004)، تجزیه و تحلیل ژنومی رتروترانسپوزون Gret1 در ارقام *Vitis vinifera* (Pereira et al. 2005)، شناسایی ty1 جدید از رتروترانسپوزون‌های خانواده copia-like در ژنوم ارقام انگور (Moisy et al. 2008)، تکثیر ژنومی رتروترانسپوزون Gret1 در انگورهای سفید وحشی و زیرگونه‌های هیبرید (Cadle-Davidson and Owens 2008)، شناسایی ارقام و گونه‌های انگور بر اساس نشانگرهای مولکولی مبتنی بر رتروترانسپوزون (D'Onofrio et al. 2010)، شناسایی چندشکلی کلون‌های قدیمی *Vitis vinifera* Tempranillo با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهوره و رتروترانسپوزون (Carcamo et al. 2010)، کارایی نشانگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزون و AFLP در شناسایی کلون‌های ارقام انگور پرتغال (Castro et al. 2011) اشاره کرد. همچنین از دیگر تحقیقات انجام شده بر روی انگور می‌توان به استفاده از نشانگرهای RAPD (Collins and Symons 1993; Striem et al. 1996; Ye et al. 1998; Wang et al. 1999; Rigi Nezhad et al. 2004; Ghabadi et al., 2008)، AFLP (Herrera et al. 2002)، ریزماهوره (Thomas and Scott 1993; Bowers et al. 1996; Sefc et al. 1999; Najafi et al. 2006; Behruz et al. 2010) و AFLP (Fanizza et al. 2003; Cervera et al. 1998) اشاره کرد.

این تحقیق با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی رقم‌های انگور کشت شده در منطقه سیستان با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزون انجام شده‌است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA

در این پژوهش ۳۳ ژنوتیپ انگور گونه *Vitis vinifera* از کلکسیون مرکز تحقیقات کشاورزی زهک تهیه شد. (جدول ۱) در اواسط بهار سال ۱۳۹۰ از ارقام مورد مطالعه ۵-۶ برگ جوان نزدیک به انتهای شاخه انتخاب و تا زمان استفاده در یخچال ۷۰°C- نگهداری شدند. استخراج DNA نمونه‌های گیاهی با استفاده از کیت استخراج گیاهی RON's (شرکت BIORON)

جدول ۱- اسامی ارقام انگور مورد مطالعه در این پژوهش

شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	منشا جغرافیایی	شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	منشا جغرافیایی
(A)۱	مولایی شهریار	شهریار	(R)۱۸	شصت عروس	زابل
(B)۲	عسکری سفید ورامین	ورامین	(S)۱۹	کاردینال	نامشخص
(C)۳	بیدانه قرمز قزوین	قزوین	(T)۲۰	شاهانی قزوین	قزوین
(D)۴	خلیلی سفید فردوس	فردوس	(U)۲۱	سنگک	زابل
(E)۵	شاهانی قصر شیرین	قصر شیرین	(V)۲۲	بی دانه سفید قزوین	قزوین
(F)۶	عسکری سفید شیراز	شیراز	(W)۲۳	بی دانه زابل	زابل
(G)۷	خلیلی ورامین	ورامین	(X)۲۴	کشمشکی	زابل
(H)۸	آبک امامیه	زابل	(Y)۲۵	خلیلی سفید قزوین	قزوین
(I)۹	امیری زابل	زابل	(Z)۲۶	مایه میش	زابل
(J)۱۰	فخری	زابل	(AB)۲۷	یاقوتی قرمز قصر شیرین	قصر شیرین
(K)۱۱	یاقوتی قرمز ورامین	ورامین	(AC)۲۸	یاقوتی قرمز قزوین	قزوین
(L)۱۲	تخم تهرانی	تهران	(AD)۲۹	یاقوتی سفید زابل	زابل
(M)۱۳	پرلت	امریکا	(AE)۳۰	یاقوتی قرمز زابل	زابل
(N)۱۴	یاقوتی سیاه شیراز	شیراز	(AF)۳۱	خلیلی بیدانه رضوان	زابل
(O)۱۵	سیاه بیرجند	بیرجند	(AG)۳۲	چشم گاوی	زابل
(P)۱۶	سفید دانه	زابل	(AH)۳۳	صاحبی	زابل
(Q)۱۷	لعل	زابل			

جدول ۲- آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق و دمای اتصال آنها F نماد آغازگر رفت و R نماد آغازگر برگشت

رتروترانسپوزون	نام آغازگر	توالی آغازگر (3'→5')	دمای اتصال آغازگر (°C)
Gret1	Gret1Fa	(AG)TGCCTCC(AG)GACACCCTGT	۵۰
	Gret1Ra	CTTAAGGGAATCCGGATGAT	۵۰
	Gret1Fb	GGTAAAAGCCAACT(AG)ATTTAT	۵۴
Tvv1	Gret1Rb	TATGAAGGTTGTCCGGATGT	۵۴
	Tvv1Fa	TCCA(AG)CTTCAGGGGAGTGT	۵۴
	Tvv1Ra	TATATATACAATTGAGAGTCCTAA	۵۴
Vine-1	Vine1Fa	TTCAGCACTCTTCATCAATAAA	۵۰
	Vine1Ra	TATATTTTTGGGCTGCTGGA	۵۰
	vine1Fb	GCTTGATTTTCTGTCATTCTAA	۵۱
	Vine1Rb	GAAACCAAATCTTGACCAA	۵۱

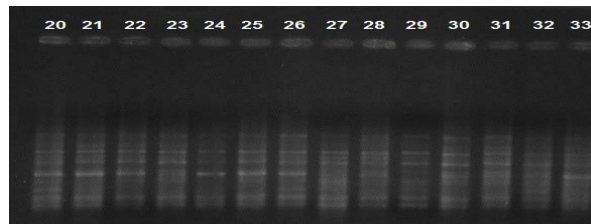
نتایج و بحث

میانگین تعداد باندهای چندشکل ارقام مورد مطالعه ۵/۵ و درصد چندشکلی بین ۵۴/۵ درصد تا ۸۵/۷ درصد متغیر بود. بیشترین درصد چند شکلی مربوط به آغازگرهای Gret1Ra و Gret1F.Ra و کمترین درصد چندشکلی مربوط به آغازگر Vine1Fb بود. در این تحقیق رتروترانسپوزونهای Vine1Fb و Tvv1Fa سطح چند شکلی کمتری (۵۴/۵ درصد و ۵۵/۵ درصد) نسبت به سایر

در مجموع واکنش‌های انجام شده با استفاده از ۱۰ آغازگر منفرد و چهار آغازگر جفتی، ۱۱۱ باند امتیازدهی شد (جدول ۳) که ۷۷ باند آن چند شکل و ۳۴ باند آن تک شکل و تعداد باندهای چند شکل آن از ۳ تا ۸ باند در هر ژل متغیر بود (شکل ۱).

جدول ۳- متوسط چند شکلی نشانگرهای IRAP در ژنوتیپ‌های انگور مورد مطالعه

شماره	نام آغازگر	تعداد کل باندها	تعداد باندهای چند شکل	درصد چندشکلی
۱	Gret1aF	۸	۵	۶۲/۵
۲	Gret1bF	۱۱	۸	۷۲/۷
۳	Gret1aR	۴	۳	۷۵
۴	Gret1bR	۷	۶	۸۵/۷
۵	Tvv1aF	۹	۵	۵۵/۵
۶	Tvv1aR	۷	۴	۵۷/۱
۷	Vine1aF	۷	۵	۷۱/۴
۸	vine1bF	۱۱	۶	۵۴/۵
۹	Vine1aR	۴	۳	۷۵
۱۰	Vine1bR	۱۱	۷	۶۳/۶
۱۱	Gret1aF.R	۷	۶	۸۵/۷
۱۲	Gret1bF.R	۶	۵	۸۳/۳
۱۳	Vine1aF.R	۹	۶	۶۶/۶
۱۴	Vine1bF.R	۱۰	۸	۸۰
مجموع		۱۱۱	۷۷	



شکل ۱- نمونه ژل حاصل از آغازگر Vine1b R بر روی تعدادی از ارقام مورد مطالعه شماره گذاری بر اساس جدول ۱

در انگور نشان می‌دهند. وقوع و تکرار رتروترانسپوزون‌های *Vine-1*، *Gret1* و *Tvv1* در ارقام انگور مورد تحقیق (2010) *D'Onofrio* نشان داد که رتروترانسپوزون‌های *copia-like* و *gypsy-like* در جنس انگور گسترده‌اند. این نتایج نشان می‌دهد که این رتروترانسپوزون‌ها قبلاً در انگورهای خاصی فعال بوده و همچنین در تکامل ارقام انگور نیز شرکت داشته‌اند. حضور و گستردگی این عناصر در سراسر ژنوم انگور به وسیله (2007) *Pelsy* برای توالی رتروترانسپوزونی *LTR* و *Tvv1* نیز گزارش شده‌است. همچنین اینکه آنها احتمالاً نقش مهمی را در ساختار و سازمان دهی ژنوم بازی کرده‌اند (Pelsy 2007). نمودار خوشه‌ای بر اساس ۷۷ باند به منظور بررسی و ارزیابی تنوع ژنتیکی چند شکلی ترسیم شد (شکل ۲). سه ضریب تطابق ساده، دایس و جاکارد محاسبه و مقایسه شد (جدول ۴). نتایج نشان داد که

نشانگرهای مورد استفاده نشان دادند و نشانگرهای *Gret1F.Ra*، *Gret1Rb* و *Gret1F.Rb* بیشترین چند شکلی (۸۳، ۸۵/۷ و ۸۵/۷ درصد) را نسبت به سایر نشانگرها نشان دادند (جدول ۳). این نتایج نشان داد که امکان جابجایی رتروترانسپوزون‌های *Gret1* در فرایند تکامل گیاهان مورد تحقیق بیشتر بود. از آنجا که این نشانگرها از گروه رتروترانسپوزون‌های *Ty3-gypsy* هستند نتایج این تحقیق این احتمال را تقویت می‌کند که رتروترانسپوزون‌های گروه *Ty3-gypsy* بیشتر از انواع رتروترانسپوزون‌های گروه *Ty1-copia* در این گیاه تکثیر و در طی تکامل این گیاه بیشتر جابجا شده‌است زیرا توانسته‌اند در طی تکامل داخل ژنوم بیشتر جابجا شده و نسخه‌های بیشتری از خود را در داخل ژنوم ایجاد کنند. نتایج نشان داده که رتروترانسپوزون‌های *Ty3-gypsy* سطح متفاوتی از چند شکلی را

جدول ۴- ماتریس تشابه بر اساس روش جاکارد نامگذاری بر اساس جدول ۱

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A	۱	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۵۶۰	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹
B	۰/۴۵۹	۱	۰/۶۶۱	۰/۶۶۱	۰/۶۶۱	۰/۶۶۱	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۳۹
C	۰/۴۵۹	۰/۶۶۱	۱	۰/۶۸۶	۰/۶۸۶	۰/۶۸۶	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۳۹
D	۰/۴۵۹	۰/۶۶۱	۰/۶۸۶	۱	۰/۷۱۱	۰/۷۱۱	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۳۹
E	۰/۴۵۹	۰/۶۶۱	۰/۶۸۶	۰/۷۱۱	۱	۰/۷۷۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۳۹
F	۰/۴۵۹	۰/۶۶۱	۰/۶۸۶	۰/۷۱۱	۰/۷۷۲	۱	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۳۹
G	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۱	۰/۵۶۹	۰/۴۵۹	۰/۶۶۱	۰/۵۱۲
H	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۶۹	۱	۰/۴۵۹	۰/۵۶۹	۰/۵۱۲
I	۰/۵۶۰	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۱	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹
J	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۶۶۱	۰/۵۶۹	۰/۴۵۹	۱	۰/۵۱۲
K	۰/۴۵۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۱
	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V
L	۱	۰/۴۵۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۴۷۶	۰/۵۶۰	۰/۴۴۸	۰/۳۹۲	۰/۴۴۸	۰/۳۳۸	۰/۴۵۹
M	۰/۴۵۹	۱	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۴۸	۰/۳۹۲	۰/۴۴۸	۰/۳۳۸	۰/۵۷۶
N	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۱	۰/۳۱۸	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۳۹۲	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹
O	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۳۱۸	۱	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۳۹۲	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹
P	۰/۴۷۶	۰/۴۵۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۱	۰/۴۷۶	۰/۴۴۸	۰/۳۹۲	۰/۴۴۸	۰/۳۳۸	۰/۴۵۹
Q	۰/۵۶۰	۰/۴۵۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۴۷۶	۱	۰/۴۴۸	۰/۳۹۲	۰/۴۴۸	۰/۳۳۸	۰/۴۵۹
R	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۱	۰/۳۹۲	۰/۵۶۸	۰/۳۳۸	۰/۴۴۸
S	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۱	۰/۳۹۲	۰/۳۳۸	۰/۳۹۲
T	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۵۶۸	۰/۳۹۲	۱	۰/۳۳۸	۰/۴۴۸
U	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۱	۰/۳۳۸
V	۰/۴۵۹	۰/۵۷۶	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۴۸	۰/۳۹۲	۰/۴۴۸	۰/۳۳۸	۱
	W	X	Y	Z	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH
W	۱	۰/۳۸۸	۰/۵۶۰	۰/۳۸۸	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۴۴۰	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸
X	۰/۳۸۸	۱	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۳۸۸	۰/۵۳۲	۰/۵۳۲	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۶۱۶	۰/۶۱۶
Y	۰/۵۶۰	۰/۳۸۸	۱	۰/۳۸۸	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۴۴۰	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸
Z	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۳۸۸	۱	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸
AB	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۱	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۴۹۹	۰/۴۹۹	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸
AC	۰/۳۸۸	۰/۵۳۲	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۳۸۸	۱	۰/۶۷۹	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۵۳۲	۰/۵۳۲
AD	۰/۳۸۸	۰/۵۳۲	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۳۸۸	۰/۶۷۹	۱	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۵۳۲	۰/۵۳۲
AE	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۴۹۹	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۱	۰/۶۱۹	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸
AF	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۴۴۰	۰/۳۸۸	۰/۴۹۹	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۶۱۹	۱	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸
AG	۰/۳۸۸	۰/۶۱۶	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۳۸۸	۰/۵۳۲	۰/۵۳۲	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۱	۰/۶۱۶
AH	۰/۳۸۸	۰/۶۱۶	۰/۳۸۸	۰/۴۴۸	۰/۳۸۸	۰/۵۳۲	۰/۵۳۲	۰/۳۸۸	۰/۳۸۸	۰/۶۱۶	۱
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
L	۰/۷۱۱	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۵۶۰	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹
M	۰/۴۵۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۵۷۶
N	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹
O	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹	۰/۲۳۹
P	۰/۴۷۶	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۷۶	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹
Q	۰/۵۶۰	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹	۰/۶۶۶	۰/۴۵۹	۰/۴۵۹
R	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸
S	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲	۰/۳۹۲
T	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸	۰/۴۴۸
U	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸	۰/۳۳۸
V	۰/۴۵۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۳۹	۰/۵۱۲	۰/۵۱۲	۰/۴۵۹	۰/۵۱۲	۰/۶۵۵

جمله حمله آفات و بیماری‌ها و یا خشکسالی‌ها فعال می‌شوند (Grandbastien 1992) می‌تواند علت چنین تقسیم بندی باشد. در اکثر گروه‌ها افرادی که در یک گروه قرار گرفته‌اند از نظر فیلوژنتیک از هم دور هستند و ارقامی که از نظر فیلوژنتیک به هم نزدیک هستند در گروه‌های مختلف قرار گرفته‌اند. مانند ارقام یاقوتی که شش رقم یاقوتی مورد استفاده متعلق به مناطق جغرافیایی ورامین، شیراز، قزوین، زابل و قصر شیرین می‌باشند. این ارقام با وجود داشتن شباهت‌های مورفولوژیک و صفات باغبانی مشابه در چهار زیر گروه دسته‌بندی شدند، فقط ارقام یاقوتی قرمز قزوین و یاقوتی سفید زابل و همچنین ارقام یاقوتی قرمز زابل و یاقوتی قرمز قصر شیرین در یک گروه قرار گرفتند. ارقام یاقوتی سفید زابل و یاقوتی قرمز زابل و همچنین بیدانه سفید قزوین و بیدانه قرمز قزوین با وجود داشتن یک منشا جغرافیایی و همچنین شباهت‌های مورفولوژیک و صفات باغبانی یکسان در زیر گروه‌های متفاوتی قرار گرفته‌اند. علت چنین دسته بندی میزان متفاوت عناصر متحرک موجود در این ارقام است. رقم خارجی پرلت همراه با ارقام یاقوتی قرمز ورامین، مایه میش، بی‌دانه سفید قزوین در یک گروه قرار گرفت که احتمالاً رقم پرلت دارای نیای مشترک با این ارقام ایرانی باشد. ولی این احتمال بسیار ضعیف است و باید با تعداد ارقام خارجی بیشتری این مقایسه انجام شود.

جدول ۶- مقادیر ویژه، نسبت واریانس توجیه شده توسط هر مختصه و واریانس تجمعی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی

مختصه اصلی	مقادیر ویژه	درصد واریانس	درصد واریانس تجمعی
مختصه اول	۲/۱۷۸۵	۱۱/۷۸۴۴	۱۱/۷۸۴۴
مختصه دوم	۱/۷۶۴۳	۹/۵۴۴۰	۲۱/۳۲۸۴
مختصه سوم	۱/۳۹۶۴	۷/۵۵۳۸	۲۸/۸۸۲۲
مختصه چهارم	۱/۰۹۷۳	۵/۹۳۶۲	۳۴/۸۱۸۴
مختصه پنجم	۱/۰۵۷۰	۵/۷۱۷۸	۴۰/۵۳۶۲
مختصه ششم	۰/۹۲۸۶	۵/۰۲۳۰	۴۵/۵۵۹۵
مختصه هفتم	۰/۸۳۰۹	۴/۴۹۵۱	۵۰/۰۵۴۶

از آنجا که الحاقات رتروترانسپوزون‌ها یک حادثه بیولوژیکی است، (Grandbastien 1998) و الحاق رتروترانسپوزون‌ها غیر قابل برگشت است (Shapiro 1999) به نظر می‌رسد که نشانگرهای رتروترانسپوزونی داده‌های تاکسونومیکی را فراهم می‌

آبک امامیه، فخری، زیر گروه پنجم شامل ارقام شصت عروس، شاهانی قزوین، زیر گروه ششم شامل ارقام یاقوتی قرمز قزوین، یاقوتی سفید زابل، چشم گاوی، صاحبی، کشمشکی زیر گروه هفتم شامل یک رقم کاردینال، زیر گروه هشتم شامل ارقام بی‌دانه زابل، خلیلی سفید در مطالعه مبتنی بر RAPD (Rigi Nezhad et al. (2004) SSR-PCR و Behruz et al. (2010) که بر روی ارقام مو سیستان انجام گرفت، افراد با قرابت ژنتیکی نزدیک در یک گروه قرار گرفته‌اند قزوین، زیر گروه نهم شامل یاقوتی قرمز زابل، خلیلی بیدانه رضوان، یاقوتی قرمز قصر شیرین زیرگروه دهم شامل رقم سنگک بود.

جدول ۵- تعداد آل واقعی، تعداد آل موثر و شاخص شانون

PRIMER	NA	NE	I
Gret1Fa	۲	۱/۷۹۷۱	۰/۶۱۴۶
Gret1Fb	۲	۱/۵۸۵۶	۰/۴۸۵۴
Gret1Ra	۲	۱/۳۸۱۳	۰/۴۴۷۵
Gret1Rb	۲	۱/۵۶۲۸	۰/۵۲۱۴
Tvv1Fa	۲	۱/۶۷۴۷	۰/۵۷۸۴
Tvv1Ra	۲	۱/۵۰۷۳	۰/۴۹۲۴
Vine1Fa	۲	۱/۴۰۰۵	۰/۴۲۳۰
vine1Fb	۲	۱/۸۷۹۵	۰/۶۵۶۵
Vine1Ra	۲	۱/۴۲۴۵	۰/۴۵۰۳
Vine1Rb	۲	۱/۷۹۲۰	۰/۶۲۷۴
Gret1F.Ra	۲	۱/۷۱۹۹	۰/۵۸۹۶
Gret1F.Rb	۲	۱/۵۹۸۱	۰/۵۲۹۳
Vine1F.Ra	۲	۱/۵۹۳۹	۰/۵۲۹۹
Vine1F.Rb	۲	۱/۳۹۸۹	۰/۴۲۲۶

اما در مطالعه حاضر چنین نبود. در نتایج مطالعه Behruz et al. (2010) بر روی ارقام انگور سیستان، نشانگرهای مبتنی بر ریزماهواره نتوانستند دو رقم یاقوتی سفید زابل و یاقوتی قرمز زابل را از هم تفکیک کنند. این در حالی است که نشانگرهای رتروترانسپوزونی نه تنها این دو ژنوتیپ را از هم متمایز کرده است بلکه آنها را در زیر گروه‌های جداگانه‌ای قرار دادند. همچنین ارقام یاقوتی قرمز قصرشیرین، یاقوتی سیاه شیراز و صاحبی در مطالعه Behruz et al. (2010) در یک گروه قرار گرفته بودند ولی در مطالعه حاضر هرکدام از این رقم‌ها در گروه‌های مختلف قرار گرفته‌اند. از آنجا که فعالیت رتروترانسپوزون‌ها تابعی از تنش‌هاست و در اثر تنش‌هایی از

(شکل ۳). تقریباً تمام ارقامی که در نمودار خوشه‌ای در یک گروه قرار گرفته‌اند در نمودار دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی نیز نزدیک به هم قرار گرفته‌اند.

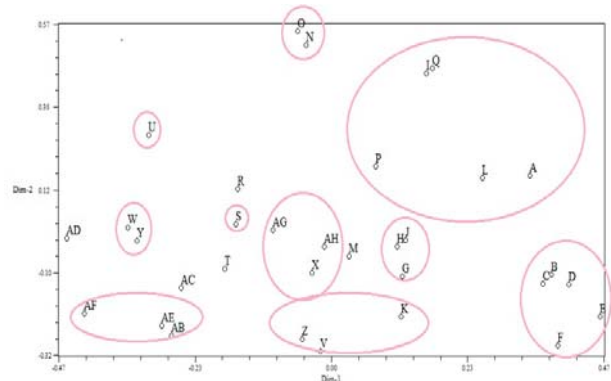
سپاسگزاری

بدینوسیله از مرکز تحقیقات انگور زابل به دلیل فراهم کردن کلکسیون ژرم پلاسما انگور و همچنین از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- Bataillon TM, David JL, Schoen DJ (1996). Neutral genetic markers and conservation: simulated Germplasm collections. *Genetics* 144: 409-417.
- Behruz A (2010) Investigation of genetic diversity in Sistan grapes using microsatellite molecular markers. MSc thesis in plant breeding, University of Zabol (In Persian)
- Boeke J, Corces VG (1989) Transcription and reverse transcription of retrotransposons. *Annual Reviews in Microbiology* 43: 403-434.
- Bowers JE, Dangl GS, Vignani R, Meredith CP (1996) Isolation and characterization of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* 39: 628-633.
- Cadle-Davidson MM, Owens CL (2008) Genomic amplification of the *Gret1* retroelement in white-fruited accessions of wild *Vitis* and interspecific hybrids. *Theoretical and Applied Genetics* 116: 1079-1094.
- Carcamo C, Provedo I, Arroyo-Garcia R (2010) Detection of polymorphism in ancient Tempranillo clones (*Vitis vinifera* L.) using microsatellite and retrotransposon markers. *Iranian Journal of Biotechnology* 8: 1-23.
- Castro I, D'Onofrio C, Martín JP, Ortiz JM, De Lorenzis G, Ferreira V, Pinto-Carnide O (2011) Effectiveness of AFLPs and Retrotransposon-Based Markers for the Identification of Portuguese Grapevine Cultivars and Clones. *Molecular Biotechnology* 1-14.
- Cervera MT, Cabezas JA, Sancha JC, Martinez de Toda F, Martinez-Zapater JP (1998) Application of AFLPs to the characterisation of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). *Theoretical and Applied Genetics* 97: 51-59.
- Collins GG, Symons RH (1993) Polymorphism in grapevine DNA detected by the RAPD-PCR technique. *PL. Molecular Biotechnology Reporter* 11: 105-112.
- Dettweiler E, Eibach R (2003) The two vitis databases as tools for germplasm management of vitis international variety catalogue and European vitis database. *Acta Horticulturae* 603: 505-509.
- D'Onofrio C, De Lorenzis G, Giordani T, Natali L, Cavallini A, Scalabrelli G (2010) Retrotransposon-based molecular markers for grapevine species and cultivars identification. *Tree Genetics and Genomes* 6: 451-466.

کنند که سازگاری بیشتری با معیارهای جغرافیایی و مورفولوژیکی دارد. تعداد آل واقعی (na) و تعداد آل موثر (ne) برای تعیین میزان چندشکلی جایگاه‌ها همراه با شاخص شانون (I) در جدول (۵) نشان داده شده است. برای تمام آل‌ها اندازه‌های آل موثر از تعداد آل واقعی کمتر بود. تعداد آل‌های واقعی همه آغازگرهای استفاده شده یکسان و مساوی دو بود. بیشترین تعداد آل موثر و بیشترین تنوع به دلیل شاخص شانون (I) بزرگتر مربوط به آغازگر VinF.b و کم‌ترین تعداد آل موثر مربوط به آغازگر Gret1R.a و همچنین کم‌ترین تنوع مربوط به آغازگر VineF.R.b می‌باشد. کمترین مقدار شاخص شانون (I) متعلق به آغازگر VineF.R.b (۰/۲۴۲۶) و بیشترین مقدار شاخص شانون (I) متعلق به آغازگر VinF.b (۰/۶۵۶۵) بود که با توجه به تعداد آل نسبتاً زیاد منطقی به نظر می‌رسد. نتایج بدست آمده از تجزیه به مختصات اصلی (جدول ۶) نشان داد که ۶ مختصه اول در مجموع ۴۵/۵ درصد از کل تغییرات را توجیه کرد. سهم مختصه اول در میزان تنوع مشاهده شده ۱۱/۷۸ درصد بود. مختصه دوم ۹/۵۴۴ درصد و مختصه سوم ۷/۵۵۳ درصد از کل تغییرات را توجیه می‌کند. با توجه به این که چند مولفه اول میزان کمی از تغییرات را توجیه می‌کند و مولفه‌های زیادی توجیه کننده کل تغییرات هستند در نتیجه می‌توان بیان کرد که آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه به طور گسترده‌ای در طول ژنوم پراکنده‌اند و به طور قابل قبولی توانسته‌اند ارقام مورد مطالعه را با روش تجزیه خوشه‌ای از هم تفکیک کنند.



شکل ۳- نمودار دو بعدی تجزیه به مختصات اصلی ارقام مورد مطالعه نامگذاری بر اساس جدول ۱

نمودار دو بعدی حاصل از نتایج تجزیه به مختصات اصلی نیز نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام را تقریباً توجیه می‌کند

- Doolittle RF, Feng DF, Johnson MS, Mc Clure MA (1989) Origins and evolutionary relationship of retroviruses. The Quarterly Review of Biology 64: 1-30.
- Errika RH, Gao X, Voytas DF (2004) The diversity of LTR retrotransposons. Genome Biology 5: 225-231.
- Fanizza G, Chaabane R, Lamaj F, Ricciardi L (2003) AFLP analysis of genetic relationships among aromatic grapevines (*Vitis vinifera*). Theoretical and Applied Genetics 107: 1043-1047.
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Ferguson A, Taggart JB, Prodohl PA, McMeel O, Thompson C, Stone C, McGinnity P, Hynes RA (1995) The application of molecular markers to the study and conservation of fish populations with special reference to Salmo. Fish Biology 47: 103-126.
- Flavell AJ, Dunbar E, Anderson R, Pearce SR, Hartley R, Kumar A (1992) *Ty1*-copia group retrotransposons are ubiquitous and heterogeneous in higher plants. Nucleic Acids Research 20: 3639-3644
- Flavell RB (1986) Repetitive DNA and chromosome evolution in plants. Philo Trans R Soc of Lond B Biology Science 312: 227-242.
- Ghareyazi B (1998) The application of DNA markers in plant breeding. Proceedings of the 4th Conference on Agronomy and Plant Breeding. Isfahan University of Technology 42: 328-381. (In Persian)
- Ghasemi K (1999) Investigation on genetic diversity in cotton genotypes by RAPD markers. MSc thesis in plant breeding, Tehran University 16 (in Persian).
- Ghobadi C, Khoshkho M, Seyed Tabatabaei BI (2008) Genetic relatedness and variation of some grape genotypes (*Vitis vinifera* L.) in Isfahan province using RAPD markers. Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 45: 627-635 (In Persian)
- Grandbastien MA (1998) Activation of plant retrotransposons under stress conditions. Trends Plant Science 3: 181-187.
- Grandbastien MA (1992) Retroelements in higher plants. Trends in Genetics 8: 103-108.
- Herrera R, Cares V, Wilkinson MJ, Caligari PDS (2002) Characterization of genetic variation between *Vitis vinifera* cultivars from central Chile using RAPD and inter simple sequence repeat markers. Euphytica 124: 139-145.
- Jianxin MA, Katrien MD, Bennetzen JL (2004) Analyses of LTR retrotransposon structures reveal recent and rapid genomic DNA loss in rice. Genome Research 14: 860-869.
- Kimura M, Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics 49: 725-738.
- Kumar A, Bennetzen J (1999) Plant retrotransposons. Annual Review of Genetic 33: 479-532.
- Labra M, Imazio S, Grassi F, Rossoni M, Sala F (2004) Vine-1 retrotransposon-based sequence specific amplified polymorphism for *Vitis vinifera* L. genotyping. Plant Breeding 123: 180-185.
- Martinez LE, Cavagnaro PF, Masuelli RW, Zuniga M (2006) SSR based assessment of genetic diversity in South American *Vitis vinifera* varieties, Plant Science 170: 1036-1044.
- Moisy C, Garrison KE, Meredith CP, Pelsy F (2008) Characterization of ten novel *Ty1*/copia-like retrotransposon families of the grapevine genome. BioMed Central genomics 9: 469
- Najafi J, Alipanah L, Gharayazi B, Mohammadi SA, Hagh Nazari A, This P (2006) Genetic diversity of Iranian and some European grapes revealed by microsatellite markers. Iranian Journal of Biotechnology 4: 36-44 (In Persian).
- Pelsy F (2007) Untranslated leader region polymorphism of *Tyv1*, a retrotransposon family, is a novel marker useful for analyzing genetic diversity and relatedness in the genus *Vitis*. Theoretical and Applied Genetics 116: 15-27.
- Pereira HS, Barao A, Delgado M, Morais-Cecilio L, Viegas W (2005) Genomic analysis of Grapevine Retrotransposon 1 (*Gret1*) in *Vitis vinifera*. Theoretical and Applied Genetics 111: 871-878.
- Rigi Nezhad N (2004) Study of polymorphism some local varieties of Sistan grape using molecular markers RAPD. MSc thesis in plant breeding, University of Zabol (In Persian).
- Rohlf FJ (1972) An empirical comparison of three ordination techniques in numerical taxonomy. Systematic Zoology 21: 271-280.
- Sabeti H (1976) Forests, Trees and Shrubs of Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organization Publications, Tehran, Iran (in Persian).
- Sefc KM, Regner F, Turetschek E, Glossl J, Steinkeller H (1999) Identification of microsatellite sequence in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping of different *Vitis* species. Genome 42: 367-373
- Shannon CE, Weaver W (1949) The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana.
- Shapiro J (1999) Transposons: elements as the key to a 21st century view of evolution. Genetica 107: 171-179.
- Shimamura M, Yasue H, Ohshima K, Abe H, Kato H, Kishiro T, Goto M, Munechika I, Okada N (1997) Molecular evidence from retrotransposons that wales from a clade within even-toed ungulates. Nature 388: 666-670.
- Striem M, Hayyim GB, Spiegel-Roy P (1996) Identifying molecular genetic markers associated for describing cultivars and evaluating genetic relatedness. Plant Molecular Biotechnology 25: 938-949.
- Thomas MR, Scott NS (1993) Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphism when analyzed as sequence-tagged sites (STSs). Theoretical and Applied Genetics 86: 985-990.
- Wang Y, Chen J, Ln J (1999) Random amplified polymorphic DNA analysis of *Vitis* species and Florida bunch grapes. Science Horticulture 82: 85-94.
- Ye G, Soylemezoglu G, Weeden N (1998) Analysis of the relationship between grapevine cultivar, Sport and clones via DNA fingerprinting. Vitis 37: 33-38.