ژنتیک نوین
دوره سیزدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٧
صفحه ٤٨٧ - ٤٧٩

ارزیابی تنوع ژنتیکی در برخی ارقام ایرانی و خارجی و ژنوتیپ‌های امید بخش زیتون با استفاده از نشانگرهای ISSR

Evaluation of genetic variation in some Iranian and foreign cultivars and promising genotypes of Olive using ISSR markers

مجید گلمحمدی[1]، امید سفالیان*[2]، جعفر احمدی[3]، مهدی طاهری[4]، علیرضا قنبری[5]، ولی‌اله رسولی[6]

١- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل و مربی پژوهش، مرکز تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ومنابع طبیعی، قزوین، ایران
٢- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل،ایران
٣- استاد، گروه ژنتیک و به نژادی گیاهی، دانشگاه بین المللی امام خمینی(ره) ، قزوین، ایران
٤- دانشیار، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، زنجان، ایران
٥- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
٦- استادیار، گروه تحقیقاتی حبوبات، مرکز تحقیقات و آموزش و پرورش و منابع طبیعی و منابع طبیعی، قزوین، ایران

Golmohammadi M[1], Sofalian O[*2], Ahmadi J[3], Taheri M[4], Ghanbari A[5], Rasoli V[6]

1- PhD Candidate, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil and instructor of Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Qazvin, Iran
2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3- Professor, Department of Genetics and Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
4- Associate Professor, Department of Soil and water Research, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran
5- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
6- Assistant Professor, Horticulture Crops Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Qazvin, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: o_sofalian@uma.ac.ir

(تاریخ دریافت: ٩٧/٤/١١ - تاریخ پذیرش: ٩٧/١٢/١٥)

چکیده

زیتون به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان باغی شناخته می‌شود که دارای بیش از ١٢٠٠ رقم کاملاً متمایز و تعداد فراوانی رقم وحشی در جهان است. در این مطالعه تنوع ژنتیکی موجود در یک مجموعه از ارقام زیتون ایرانی و خارجی با استفاده از نشانگرهای ISSR ارزیابی شد. در مجموع ١٦ آغازگر، ١٩٠ قطعه تکثیر یافت که ١٧٢ قطعه از آن‌ها (٩٠/٥٢ درصد) چند شکل بود. میانگین شاخص‌های قدرت تمایز (Rp) و محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) به‌ترتیب برابر با ١٠/٢٢ و ٠/٤٥ بود که بیانگر قابلیت آغازگرهای استفاده شده در ارزیابی تنوع ژنتیکی بود. نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که ٧ درصد از تغییرات کل، مربوط به تنوع بین گروهی و ٩٣ درصد از تغییرات مربوط به تنوع درون گروهی ارقام و ژنوتیپ‌های زیتون بود. میانگین درصد مکان‌های چند شکل (PPL)، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na) و مؤثر (Ne)، اطلاعات شانون (I) و تنوع ژنتیکی (H) به‌ترتیب برابر با ٨٢/١١ درصد، ١/٧٣، ١/٤٣، ٠/٣٩ و ٠/٢٦ بود و ارقام ایرانی نسبت به خارجی از نظر کلیه پارامترهای تنوع ژنتیکی دارای مقادیر بالاتری بودند. روابط ژنتیکی بین ارقام مورد بررسی با استفاده از تجزیه خوشه‌ای بررسی شد و نتایج به‌دست آمده نشان داد که کلیه ارقام درون سه گروه اصلی قرار گرفتند. نتایج تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) نیز تأییدکننده نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بود. به‌طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد نشانگرهای ISSR استفاده شده به‌طور مطلوبی قادر به منعکس نمودن میزان تنوع ژنتیکی و روابط بین ارقام زیتون هستند. از این‌رو، استفاده از این آغازگرها در سایر مطالعات ژنتیکی مانند نقشه‌یابی QTL و تجزیه ارتباطی قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

زیتون
تنوع ژنتیکی
تجزیه به مختصات اصلی
تجزیه خوشه‌ای

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

مقدمه

زیتون با نام علمی (*Olea europaea* L.) متعلق به خانواده Oleaceae و یکی از اولین و قدیمی‌ترین درختان میوه است این گیاه برای هزاران سال منبع اصلی روغن خوراکی در حوزه مدیترانه بوده است. امروزه با پیشرفت علم و مشخص شدن خواص غذایی و درمانی زیتون و روغن آن، گرایش به مصرف آن افزایش چشم‌گیری داشته است، چراکه روغن زیتون دارای سطح بالایی از اولئیک اسید است (Seifi 2008). اگرچه برخی از محققان با توجه به شواهد تاریخی و باستان‌شناسی، خاستگاه اولیه زیتون را فلسطین، لبنان، شمال غربی سوریه و مصر می‌دانند و معتقدند که زیتون در اثر تحولات تاریخی و جنگ‌ها به اروپا برده شده‌است (Zohary 1994). بر اساس گزارش انجمن بین‌المللی زیتون سطح زیر کشت زیتون در دنیا به ۱۰۳۷۱۰۰۰ هکتار رسیده است و این گیاه مناسب کشت در شرایط خشک و نیمه خشک می‌باشد، که جایگاه و اهمیت خاصی در صنعت میوه کاری ایران در آینده‌ای نزدیک به خود اختصاص می‌دهد (Arji et al. 2013). امروزه ایران با دارا بودن ۱۰۰۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت زیتون و تولید بیش از ۳۰۰۰ تن روغن در سال به‌عنوان یکی از کشورهای پرورش‌دهنده زیتون در جهان محسوب می‌شود. ذخایر ژنی زیتون ایران یکی از ذخایر ژنی مهم جهان می‌باشد. از این‌رو تشخیص و حفظ واریته‌های مختلف زیتون ایران انجام مطالعات ژنتیکی مختلف را ضروری به‌نظر می‌رساند (Motaghi et al. 2012). اولین قدم برای ارزیابی میزان تفاوت ژنتیکی و دامنه تنوع و نیز برنامه‌ریزی هدفمند برای کارهای اصلاحی، اطلاع از تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی بین ارقام مناطق مختلف است. تنوع و انتخاب دو رکن اصلی هر هر برنامه اصلاحی بوده و انجام انتخاب منوط به وجود تنوع مطلوب از حیث هدف مورد بررسی می‌باشد. به‌منظور بهره‌مندی از تنوع موجود و ایجاد تغییرات جدید، ارزیابی منابع ژنتیکی ضروری به‌نظر می‌رسد. تاکنون مطالعات گوناگونی در ارتباط با استفاده از نشانگرهای مولکولی در مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام گوناگون زیتون انجام شده‌است. به‌عنوان نمونه، Motaghi et al. (2012) نوع ژنتیکی موجود در ۴۹ نمونه زیتون متعلق به ۱۰ رقم جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران را با استفاده از ۲۰ آغازگر RAPD مورد بررسی قرار دادند و نتایج این مطالعه سطح بالایی از تنوع ژنتیکی را بین ارقام مختلف نشان داد. به‌منظور مطالعه ارقام کشت شده در مولیسه ایتالیا و ارتباط آن‌ها با ارقام مناطق مجاور، هجده رقم از مولیسه با استفاده از نشانگرهای AFLP بررسی شدند. از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی به‌منظور برآورد شباهت‌ها و بررسی منشأ ارقام استفاده شد و ارقام مورد مطالعه با سایر ارقام کاشته شده در ایتالیا و فرانسه مقایسه شدند و ارقام متعدد شباهت‌های زیادی نشان دادند (Angiolillo et al. 2006). Bemsard et al. (2001) مجموعه‌ای متشکل از ۱۱۳ رقم و ژنوتیپ زیتون را با استفاده از نشانگرهای چندشکل RAPD مورد مطالعه قرار دادند. در این بررسی نشانگرهای RAPD به‌صورت قابل توجهی ارقام و ژنوتیپ‌های زیتون را از یکدیگر تفکیک کردند. علاوه‌براین، در آزمایشی Marrozzo et al. (2000) نیز از نشانگرهای SSR برای شناسایی ارقام زیتون استفاده کردند. نتایج حاصل از مطالعه آن‌ها وجود تنوع را در ۵۰ جایگاه SSR برای ارقام مورد مطالعه نشان داد و تنها در دو جایگاه SSR تک شکل بودند. هم‌چنین در این مطالعه تمامی ارقام بر اساس منشا جغرافیایی خود در گروه‌های مجزایی تفکیک شدند. در ارزیابی Mardi et al. (2016) تنوع و روابط بین مجموعه‌ای از ارقام زیتون با استفاده از نشانگرهای SSR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله از این ارزیابی نشان داد که اکثر درختان مادری در گروه مجزایی گروه‌بندی شدند به طوری که با استفاده از کلید شناسایی مولکولی آن‌ها امکان تشخیص ارقام مختلف به‌منظور تأیید اصالت ژنتیکی آن‌ها مسیر شد. Linos et al. (2014) با استفاده از سه سیستم نشانگری ISSR، SSR و RAPD تنوع ژنتیکی موجود در مجموعه‌ای از ژرم‌پلاسم‌های زیتون یونان را ورد بررسی قرار دادند. این محققان علاوه بر گزارش سطح بالایی از تنوع ژنتیکی عنوان کردند هر دو سیستم تولید مثلی و رویشی نیز در تکامل ژرم‌پلاسم زیتون نقش دارند. در بررسی Abdessemed et al. (2015) نیز مجموعه‌ای از ارقام زیتون بومی آرژانتین را با استفاده از نشانگرهای SSR مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج آن‌ها بیانگر میزان قابل توجهی بین و درون گروهی بود.

تعیین منشاء ژنتیکی و ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام زیتون نه تنها از جنبه‌های احداث باغ، بلکه از نظر شناسایی روابط خویشاوندی،

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

برای دستیابی به ارقام جدید اقتصادی و مطابق با نیازهای روز اهمیت زیادی دارد. بنابراین طراحی هر برنامه به‌نژادی و ایجاد باغ با ارقام مورد نظر و گواهی شده مستلزم شناسایی ویژگی‌های اختصاصی هر رقم می‌باشد. نظر به اینکه در سال‌های اخیر گردآوری و گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف زیتون در ایران بیش از پیش مورد توجه پژوهشگران توجه قرار گرفته است، از این‌رو هدف از این تحقیق بررسی میزان تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی ارقام مختلفی ایرانی و خارجی زیتون با استفاده از نشانگرهای مولکولی بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۲۰ رقم ایرانی و خارجی زیتون مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. کلیه ارقام مورد مطالعه از ایستگاه تحقیقاتی زیتون واقع در طارم تهیه و مشخصات آن‌ها در جدول ۱ درج شده‌است. استخراج DNA ژنومی از برگ‌های هر یک از ارقام مورد مطالعه با استفاده از دستورالعمل CTAB[1] و بر اساس روش Doyle and Doyle (1987) انجام شد. کیفیت DNA استخراجی هر توده علاوه بر تعیین توسط دستگاه نانودراپ مدل (THERMO;2000 spectrophotometer) توسط الکتروفورز ژل الکتروفروز ۰/۸ درصد مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله نخست تعداد ۲۵ آغازگر ISSR جهت بررسی تنوع ژنتیکی انتخاب شدند که از بین آن‌ها تنها ۱۶ آغازگر ISSR قادر به تولید قطعات چند شکل بودند و جهت ارزیابی تنوع و برآورد پارامترهای ژنتیکی استفاده شد. مشخصات هر یک از این آغازگرها در جدول ۲ نشان داده شده‌است. پس از بهینه‌سازی شرایط تکثیر، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR[2]) در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل ۷/۵ میکرولیتر Master mix2X، ۴/۵ میکرولیتر آب دیونیزه، ۱/۵ میکرولیتر DNA ژنومی (۵۰ نانوگرم) و ۱/۵ میکرولیتر (یک میکرومولار) آغازگر انجام شد. تکثیر PCR در ترموسایکلر با دمای واسرشت‌سازی اولیه ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه و سپس ۴۰ چرخه با دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، ۵۰ ثانیه دمای ۴۵ درجه سلسیوس اتصال هر آغازگر و دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به‌عنوان دمای گسترش و در نهایت هفت دقیقه دمای ۷۲ درجه سلسیوس جهت بسط نهایی انجام شد. محصولات PCR نیز در ژل آگارز ۱/۵ درصد و با استفاده از رنگ‌آمیزی با Safeview تفکیک و سپس به‌صورت ماتریس یک (مشاهده باند) و صفر (عدم مشاهده باند) امتیازدهی شدند.

جدول ۱- اسامی ارقام زیتون مورد ارزیابی در این مطالعه

کد	رقم	منشاء	کد	رقم	منشاء
۱	T2	Iran	۱۱	Zard	Iran
۲	T6	Iran	۱۲	Roghani	Iran
۳	T7	Iran	۱۳	Mari	Iran
٤	T10	Iran	١٤	Beladi	Lebanon
٥	T17	Iran	١٥	Mission	USA
٦	T19	Iran	١٦	Manzanilla	Spain
۷	T20	Iran	۱۷	Koroneiki	Greece
۸	T21	Iran	۱۸	Kalamata	Greece
۹	T18	Iran	۱۹	Corfolia	Spain
۱۰	T24	Iran	۲۰	Abou-satl	Syria

به‌منظور ارزیابی کارایی آغازگرهای استفاده شده برخی از معیارهای کارایی نشانگر همچون محتوی اطلاعات چندشکل (PIC[3])، شاخص نشانگر (MI[4]) و قدرت تمایز (Rp[5]) بر اساس روابط ارائه شده توسط Powell et al. (1996) محاسبه شد. به منظور تعیین تنوع ژنتیکی بین گروهی و همچنین تنوع درون آن‌ها، تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA[6]) با استفاده از نرم‌افزار GenAlEX انجام شد. جهت بررسی و مقایسه میزان تنوع ژنتیکی موجود در هر یک از گروه‌های ایرانی و خارجی پارامترهای ژنتیکی درصد لوکوس‌های چندشکل (PPL[7])، شاخص شانون (I[8])، تنوع ژنی نی (H[9])، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na[10]) و تعداد آلل‌های مؤثر (Ne[11]) با استفاده از نرم‌افزار POP-GENE برآورد شدند. گروه‌بندی توده‌های مورد بررسی بر

[1] Cethyl Trimenthyl Ammonium Bromide
[2] Polymerase Chain Reaction

[3] Polymorphism information content
[4] Marker index
[5] Resolving power
[6] Analysis of molecular variance
[7] Percentage of polymorphism loci
[8] Shannon's information index
[9] Nei's genetic diversity
[10] Number of observed alleles
[11] Effective number of alleles

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

اساس ماتریس تشابه جاکارد و به روش Neighbor-joining با استفاده از نرم‌افزار DARwin ver. 6 صورت گرفت. تجزیه به مختصات اصلی (PCoA[1]) نیز با استفاده از نرم‌افزار GenAlEX و و با هدف ارزیابی روابط بین ارقام مختلف انجام شد.

نتایج و بحث

در جدول ۲ خلاصه‌ای از نتایج به‌دست آمده از تکثیر ۱۶ آغازگر ISSR استفاده شده در ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۰ رقم زیتون ایرانی و خارجی ارائه شده‌است. آغازگرهای مورد استفاده در مجموع ۱۹۰ قطعه تکثیری یافت شد که از بین آها ۱۷۲ قطعه چندشکل بود. تعداد کل قطعات تکثیری از هشت تا پانزده با میانگین ۱۱/۸۷ متغییر بود و در بین آغازگرهای استفاده شده، آغازگر (UBC 846) دارای کم‌ترین قطعه تکثیری و آغازگرهای (UBC 810-910) و(UBC 855) بیش‌ترین تعداد قطعات را تکثیر کردند. میانگین قطعات چندشکل برابر با ۱۰/۷۵ بود و آغازگر (VW-5672) با ۵ قطعه و آغازگرهای (UBC 811) و(UBC 855) با ۱۵ قطعه به‌ترتیب از کم‌ترین و بیش‌ترین قطعات چندشکل برخوردار بودند. شاخص نشانگری (*MI*) با میانگین ۵/۰۱ دامنه‌ای از تغییرات را بین آغازگرهای استفاده شده نشان داد به‌طوری که آغازگرهای (VW-5672) و (UBC 810-910) به‌ترتیب با مقادیر ۱/۳۷ و ۷/۴۹ دارای کم‌ترین و بیش‌ترین شاخص نشانگری بودند. علاوه بر این، شاخص قدرت تمایز (*Rp*) نیز بین مقادیر ٦ (UBC-846) و ١٤/٥ (UBC 810-910) با میانگین ۱۰/۲۲ متغییر بود. شاخص محتوی اطلاعات چند شکل (*PIC*) نیز دارای میانگین ۰/٤٥ بود و آغازگرهای (UBC-841-y) و(UBC-817) دارای بیش‌ترین مقدار *PIC* بودند. در مقابل کم‌ترین مقدار *PIC* به آغازگر (VW-5672) تعلق داشت.

[1] Principal coordinate analysis

جدول ۲- مشخصات توالی آغازگرهای ISSR و نتایج حاصل از تکثیر PCR در ۲۰ رقم زیتون ایرانی و خارجی

ردیف	آغازگر	Sequence (5´→3´)	MI	Rp	PIC	PPL	PNB	TNB
١	UBC-873	GACAGACAGACAGACA	٦/٦٣	١٠/٨	٠/٤٧	١٠٠	١٠	١٤
٢	UBC-841-y	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	٦/٠١	١٣/١	٠/٤٩	٩٢/٨	١٣	١٤
٣	VW-5672	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	١/٣٧	٨/٢٠	٠/٣٦	٥٥/٥٥	٥	٩
٤	UBC 811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	٧/٤٩	١٤/٥	٠/٤٨	١٠٠	١٥	١٥
٥	UBC-834-910	AG AG AG AG AG AG AG AG YT	٥/٠٤	١١/٩	٠/٤٧	٩١/٦٦	١١	١٢
٦	UBC-827-910	AC AC AC AC AC AC AC AC G	٣/٠٩	٨/٢	٠/٤٢	٨٠	٨	١٠
٧	HB12	CAC CAC CAC GC	٥/٧٦	٩/٦	٠/٤٨	١٠٠	١٢	١٢
٨	ISSR-16	ACT CAC TCA CTC ACT C	٦/٦٩	١١/٠٩	٠/٤٧	١٠٠	١٤	١٤
٩	ISSR-17	CAC ACA CAC ACA CAC AAG	٤/٩١	١٠/٠٩	٠/٤٥	٩١/٦٦	١١	١٢
١٠	UBC-825	ACACACACACACACACT	٦/٨٢	١١/٨	٠/٤٦	١٠٠	١٤	١٤
١١	UBC-810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	٤/١٢	١٠/٨	٠/٤١	٨٣/٣٣	١٠	١٢
١٢	UBC-817	CAC ACA CAC ACA CAC AA	٤/٠٤	٩/٩	٠/٤٩	٩٠	٩	١٠
١٣	UBC-855-910	AC AC AC AC AC AC AC AC YT	٤/٩٥	٩/١	٠/٤٧	١٠٠	١٠	١٠
١٤	UBC-809	AGA AGA AGA AGA AGA GG	٣/٤٨	٧/٧	٠/٤٦	٨٨/٨٨	٨	٩
١٥	UBC-846	CAC ACA CAC ACA CAC ART	٢/٨٧	٦	٠/٤١	٨٧/٥	٧	٨
١٦	UBC-855	ACACACACACACACACYT	٦/٩١	١٠/٨	٠/٤٦	١٠٠	١٥	١٥
		میانگین	٥/٠١	١٠/٢٢	٠/٤٥	٩١/٣٣	١٠/٧٥	١١/٨٧

MI، Rp، PIC، PPL، PNB و TNB به‌ترتیب بیانگر شاخص نشانگری، قدرت تمایز، محتوای اطلاعات چند شکل، درصد مکان‌های چند شکل، تعداد قطعات چند شکل و تعداد کل قطعات تکثیر شده می‌باشند. Y بیانگر نوکلئوتید C یا T می باشد.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

در بین شاخص‌های تعیین کننده کارایی یک سیستم نشانگری، دو شاخص‌های *PIC* و *Rp* از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند زیرا این دو شاخص قابلیت سیستم نشانگری در تعیین اثر بخشی و پتانسیل آغازگرهای استفاده شده در ارزیابی تنوع ژنتیکی و قدرت تمایز نمونه‌های مورد بررسی را نشان می‌دهند (Powell et al. 1996). به‌عبارت دیگر شاخص *PIC* احتمال تشخیص چندشکلی ایجاد شده توسط یک آغازگر بین دو فرد می‌باشد که به تعداد آلل‌های قابل تشخیص و فراونی آن‌ها وابسته است. شاخص *Rp* نیز به‌عنوان معیاری جهت تمایز آغازگرهای به‌کار رفته مورد استفاده قرار می‌گیرد. در حقیقت این شاخص توانایی یک سیستم نشانگری را در ایجاد باندهای قابل امتیازدهی تعیین می‌کند. با این وجود، Prevost and Wilkinson (1999) اظهار داشتند که، این شاخص نمی‌تواند اطلاعاتی درباره توانایی یک آغازگر در بازتاب روابط ژنتیکی با تاکسونومی یک گروه ژنوتیپ تحت مطالعه را فراهم کند. با توجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مشخص آغازگرهای ISSR استفاده شده از توانایی بالایی در تفکیک ارقام ارزیابی شده دارند به‌طوری که با بررسی مقادیر شاخص PIC ملاحظه می‌شود که اکثر آغازگرها دارای مقادیر بیش از ۰/٤۰ هستند که این نتایج با یافته‌های Biton et al. (2012)، Gismondi and Canini (2013) و Marra et al. (2013) مطابقت نشان داد. این پژوهشگران نیز با بررسی ساختار جمعیت و ارزیابی تنوع ژنتیکی در مجموعه‌ای از ارقام زیتون سطح بالایی از چند شکلی را با استفاده از نشانگرهای مولکولی گزارش کردند. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بر اساس داده‌های مولکولی به‌دست آمده نشان داد که ۷ درصد از تغییرات کل، مربوط به تنوع بین گروهی است در حالی‌که ۹۳ درصد از تغییرات با تنوع درون گروهی قابل توجیه بود. (جدول ۳). در واقع سطح بالای تنوع ژنتیکی مشاهده درون گروهی بین ارقام مورد ارزیابی را می‌تواند به‌دلیل زمینه ژنتیکی بسیار متفاوت این ارقام و همچنین منشاء ژنتیکی متفاوت آن‌ها باشد که آغازگرهای استفاده شده در این تحقیق به خوبی قادر بودند این تنوع را نشان دهند. در تطبیق با این نتایج، Linos et al. (2014) نیز سطح بالایی از تنوع درون گروهی را در مجموعه‌ای از ارقام زیتون متشکل ۱۰۱ رقم و ژنوتیپ گزارش کردند. در جدول ٤ نتایج حاصل از برآورد پارامترهای ژنتیکی به تفکیک برای ارقام ایرانی و خارجی نشان داده شده است. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود مقادیر میانگین برای کلیه پارامترهای ژنتیکی در ارقام ایرانی بیشتر از ارقام خارجی می‌باشد. تعداد کل آلل‌های مشاهده دارای میانگین ۱/۷۲ بوده و ارقام ایرانی با متوسط ۱/٦۷ آلل مشاهده (*Na*) نسبت به ارقام خارجی برتری داشتند. متوسط تعداد آلل‌های موثر نیز برابر با ۱/٤۳ بود که ارقام ایرانی با میانگین ۱/٤۵ دارای تعداد آلل موثر بیشتری نسبت به ارقام خارجی بودند.

جدول ۳- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) ۲۰ رقم زیتون مورد ارزیابی با استفاده از آغازگرهای ISSR

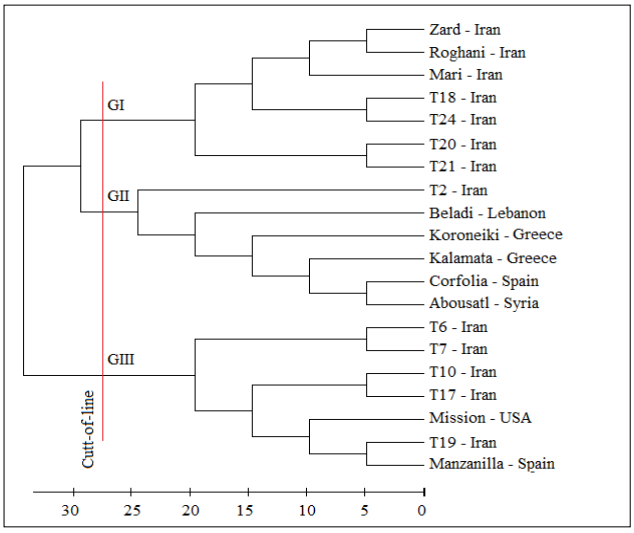
منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس برآورد شده	واریانس توجیه شده
بین جمعیت	۱	٥۲/٤۵	٥۲/٤۵	۲/۱۹	۷
درون جمعیت	۱۸	٥٦٤/۲٥	۳۱/۳٤	۳۱/۳٤	۹۳
کل	۱۹	٦۱٦/۷۰		۳۳/٥٤	۱۰۰

جدول ٤- نتایج حاصل از برآورد پارامترهای ژنتیکی در ارقام ایرانی و خارجی

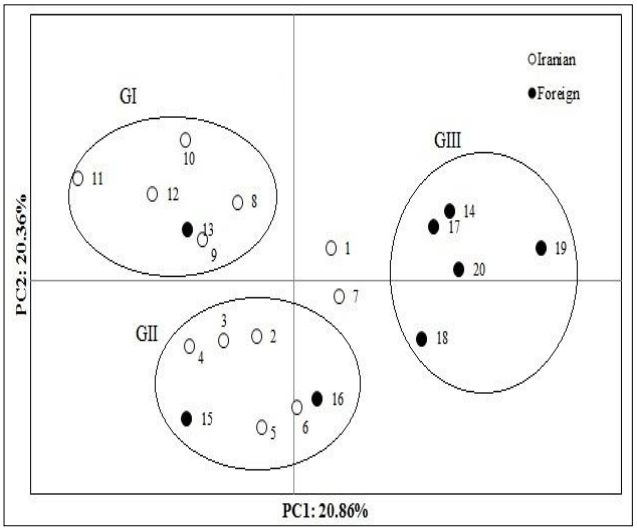
پارامتر	ارقام ایرانی	ارقام خارجی	کل
تعداد آلل‌های مشاهده شده (*Na*)	۱/۷٦±۰/۰٤	۱/٦۷±۰/۰٥	۱/۷۲±۰/۰۳
تعداد آلل‌های مؤثر (*Ne*)	۱/٤٥±۰/۰۲	۱/٤۱±۰/۰۲	۱/٤۳±۰/۰۱
شاخص شانون (*I*)	۰/٤۱±۰/۰۱	۰/۳۸±۰/۰۳	۰/۳۹±۰/۰۲
تنوع ژنتیکی نی (*H*)	۰/۲۷±۰/۰۳	۰/۲٥±۰/۰۱	۰/۲٦±۰/۰۱
درصد مکان‌های چندشکل	۸٤/۷٤	۷۹/٤۷	۸۲/۱۱

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

با توجه به اینکه ارقام ایرانی با هدف اصلاحی شناسایی و انتخاب شده‌اند و هر یک از آن‌ها حاصل به گزینی کلونی بین کلون‌های هر رقم بوده‌اند لذا بالابودن تعداد آلل‌های مؤثر در این ارقام امیدبخش نسبت به سایر ارقام دور از انتظار نیست. در بین پارامترهای ژنتیکی دو شاخص تنوع ژنی (H) و شانون (I) نسبت به سایر پارامترها از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. در واقع مقادیر بالای این دو شاخص بیانگر سطح بالای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مورد ارزیابی است. با توجه به جدول ٤ مشاهده می‌شود که مقادیر این دو شاخص نسبتاً بالا و بیش‌ترین مقادیر آن‌ها در ارقام ایرانی برآورد شده‌است. وجود سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون ارقام ایرانی می‌تواند به این دلیل باشد این گیاه باغی از دیرباز در بخش‌های وسیعی از ایران به‌ویژه در رشته کوه‌های زاگرس و جنوب کشور خاستگاه اولیه برخی از گونه‌های زیتون مانند *O. ferrugina* و *O. ocherri* بوده است که در طول تکامل و سازگاری به مناطق رشدی خود از نظر برخی از ژن‌ها و حتی آلل‌ها دستخوش تغییرات ژنتیکی شده که به موازات آن تنوع آللی آن افزایش یافته است. به‌طور کلی ماهیت دگرگرده‌افشانی بروز جهش و تأثیر عوامل محیطی از جمله عوامل مؤثر بر ایجاد تنوع در ارقام زیتون شناخته شده‌اند (Rouppevander et al. 1998). ضرایب تشابه ژنتیکی بین ارقام مختلف بر اساس روش جاکارد محاسبه و در جدول ٥ نشان داده شده‌است. دامنه ضرایب تشابه بین ۰/۳۵۱ و ۰/٦۹٤ با میانگین ۰/٥٦٥ متغیر بود. ارقام T17 و T10 دارای کم‌ترین تشابه ژنتیکی بودند و در مقابل دو رقم خارجی Abousatl و Corfolia دارای بیش‌ترین تشابه ژنتیکی بودند. به‌منظور گروه‌بندی ارقام مختلف تجزیه خوشه‌ای بر اساس ضرایب تشابه جاکارد و به‌روش Neighbor-joining شد. با توجه به دندروگرام حاصله از این تجزیه ۲۰ رقم زیتون مورد ارزیابی در سه گروه اصلی تفکیک شدند. گروه اول شامل ارقام ایرانی T18، T20، T21، T24، Mari، Roghani و Zard بود. گروه دوم در برگیرنده یک رقم ایرانی (T2) و پنج رقم خارجی Beadi، Koroneiki، Kalamata، Corfolia و Abousatl بود. از این‌رو می‌توان عنوان کرد در بین ارقام ایرانی T2 بیش‌ترین تشابه ژنتیکی را نسبت به این ارقام داشته است. گروه سوم نیز شامل چهار رقم ایرانی T6، T7، T10، T17، T19 به‌همراه دو رقم خارجی Mission و Manzanilla بود. مشابهاً دو رقم خارجی فوق الذکر بیش‌ترین میزان تشابه را با ارقام موجود در این گروه داشتند (شکل ۱). جهت تأیید گروه‌بندی به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) انجام و نتایج آن در بای‌پلات مندرج در شکل ۲ نشان داده شده‌است.



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام مختلف زیتون بر اساس ضرایب تشابه ژنتیکی جاکارد



شکل ۲- بای‌پلات حاصل از تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) برای ۲۰ رقم مختلف زیتون مورد ارزیابی بر اساس داده‌های ISSR

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

جدول ۵- ضرایب تشابه ژنتیکی برآورده شده برای ارقام زیتون مورد ارزیابی بر اساس روش جاکارد

	T2	T6	T7	T10	T17	T18	T19	T20	T21	T24	Zard	Roghani	Mari	Belydi	Missien	Manzanilla	Koroneiki	Kalamata	Corfolia
T2																			
T6	۰/۵۰																		
T7	۰/۵۱۹	۰/٤۳۱																	
T10	۰/٤۷۱	۰/۳۹٦	۰/۳۹۸																
T17	۰/۵۵۹	۰/٤۹۲	۰/٤۵٤	۰/۳۵۱															
T18	۰/۵٦۸	۰/۵۲۵	۰/٤۸۸	۰/٤۸۳	۰/٤۱۸														
T19	۰/۵۳۸	۰/۵۰۵	۰/۵۳۰	۰/٤۱۵	۰/٤۷۰	۰/٤٦٦													
T20	۰/٦۵۱	۰/۵٦٤	۰/٤۸۱	۰/۵۰۵	۰/۵٦۳	۰/۵۸۳	۰/٤۷۱												
T21	۰/۵۹۵	۰/۵٦۰	۰/۵۰۹	۰/٤٦٤	۰/٤۳۵	۰/۵۷۹	۰/۵٤۰	۰/۵۱۹											
T24	۰/٦۲۵	۰/٦۲۵	۰/٦۱۱	۰/٦۳۲	۰/٦۵۳	۰/٦۷۲	۰/٦۱۸	۰/۵۷٤	۰/۵۱۵										
Zard	۰/٦۷۸	۰/٦۱۰	۰/٦٤۱	۰/۵۷۰	۰/٦۰٦	۰/۵۷۰	۰/٦۲٦	۰/٦۲٤	۰/۵۵۹	۰/٦۱۱									
Roghani	۰/٦٤۹	۰/٦۰۲	۰/۵٦٤	۰/۵۸۵	۰/٦۲۰	۰/۵٤۹	۰/٦۰۷	۰/۵۹۱	۰/٦۱۰	۰/٦۱۵	۰/۵٦٤								
Mari	۰/۵۸٤	۰/۵۱۳	۰/٤۷٤	۰/٤٦۹	۰/۵۲۸	۰/۵۷۰	۰/٦۰۳	۰/۵۵۰	۰/۵٤۷	۰/۵۹۸	۰/۵۱۳	۰/۵۵۲							
Belydi	۰/٦۱٦	۰/٦٤۲	۰/٦۲۷	۰/۵۸۵	۰/٦۰۰	۰/٦۰۹	۰/۵٦۹	۰/٦٦۰	۰/٦۷٦	۰/٦٦۰	۰/۷۰۹	۰/٦۹٤	۰/٦٤۰						
Missien	۰/٦۱۱	۰/۵۲٤	۰/۵۰۰	۰/۵٤۳	۰/۵۱۵	۰/۵۳۳	۰/۵۹۵	۰/٦٤٦	۰/۵۷۷	۰/٦۸۷	۰/۵۵۷	۰/٦۲٤	۰/۵۲۳	۰/٦۹۳					
Manzanilla	۰/٦٤۸	۰/٤۹۲	۰/٤۸۰	۰/۵۱۲	۰/٤۱۱	۰/٤۱۹	۰/۵۰۸	۰/۵۳۸	۰/۵۰۰	۰/٦۱۸	۰/۵۹٤	۰/۵٤۰	۰/۵۳۹	۰/۵۹۸	۰/٤۷۰				
Koroneiki	۰/۵٦۳	۰/۵۵۵	۰/۵۰۰	۰/۵۸۸	۰/۵٤۲	۰/۵۵۱	۰/۵۱۹	۰/۵۹٤	۰/۵۷۷	۰/٦۰٦	۰/٦۲۷	۰/٦۰۷	۰/۵۲۷	۰/۵۸۲	۰/٦۱۷	۰/۵۱۷			
Kalamata	۰/٦۱۹	۰/۵۳۳	۰/۵۳٤	۰/۵۵٦	۰/۵۲۵	۰/٤۹٦	۰/۵۵۳	۰/٦۲۳	۰/۵٦۹	۰/٦۵۸	۰/٦۲۹	۰/۵۹۸	۰/۵۷۱	۰/٦۲٦	۰/۵۳۲	۰/٤۳٦	۰/٤۹۵		
Corfolia	۰/٦۳۰	۰/۵۷۷	۰/٦۲۷	۰/٦۲٤	۰/۵۸۸	۰/۵۹٦	۰/۵۸۳	۰/٦٦۰	۰/٦۳۹	۰/٦۷۳	۰/۷۰۹	۰/٦۹٤	۰/٦۰۲	۰/۵۷۸	۰/٦۵۰	۰/۵۳٦	۰/٤۷۳	۰//٤۸۵	
Abou-satl	۰/۵۹٤	۰/۵۹٦	۰/۵۹۵	۰/٦۰٤	۰/۵٤٤	۰/۵۵٤	۰/۵٦۲	۰/۵۹۸	۰/۵٦٦	۰/٦۳۷	۰/۷۰۰	۰/٦٤۹	۰/۵٦۹	۰/٦۵۷	۰/۵٦۳	۰/۵۳۰	۰/۵٤۵	۰/۵۲٤	۰/٤۳۵

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

دو مؤلفه نخست در مجموع ٤١/٢٢ درصد از کل تغییرات ژنتیکی موجود در ۲۰ رقم مورد ارزیابی را توجیه کردند. بر اساس بای‌پلات به‌دست آمده از این دو مؤلفه ارقام مختلف در سه گروه اصلی تفکیک شدند به‌طوری که با مقایسه ارقام موجود در هر گروه با گروه‌های به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای بسیار مشابه بود. با توجه به الگوی گروه‌بندی ارقام مختلف مشاهده می‌شود که روند تفکیک ارقام مورد ارزیابی بر اساس منشاء جغرافیایی خود در گروه‌های جداگانه‌ای از یکدیگر متمایز شده‌اند. پیش از این Breton et al. (2006) اظهار داشتند که تفکیک ارقام جمع‌آوری شده از مناطق مختلف در گروه‌های جدا از هم می‌تواند به‌واسطه فرایند تکاملی هم‌زمان آن‌ها در محیط‌ها و یا خواستگاه‌های رویشی آن‌ها باشد. علاوه بر این حضور برخی از ارقام خارجی در کنار ارقام ایرانی در یک گروه و بالعکس نیز دور انتظار نبوده و تا حدودی قابل پیش‌بینی بود. در این راستا دلایلی مختلفی توسط برخی از محققان ارائه شده‌است. به‌عنوان نمونه در مطالعه Haouane et al. (2011) تنوع ژنتیکی موجود مجموعه‌ای از ارقام زیتون ارزیابی و روند الگوی گروه‌بندی با منشاء جغرافیایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن‌ها نشان داد اگرچه رابط خطی و معنی‌داری بین الگوی گروه‌بندی و منشاء جغرافیایی ارقام مشاهده شد، با این حال بسیاری از ارقام مربوط به نواحی غربی و شرقی مدیترانه در کنار یکدیگر در یک گروه قرار گرفتند. همچنین روند الگوی گروه‌بندی ارقام در بررسی Belaj et al. (2012) نیز ناهمگن بود و بسیاری از ارقام زیتون مربوط به نواحی مرکزی مدیترانه با ارقام مربوط به نواحی غربی در یک گروه قرار گرفتند و در مقابل برخی از ارقام از هر دو ناحیه در گروه‌های مجزایی از هم تفکیک شدند.

از این‌رو، برخی از محققان قرار گیری ارقام مختلف با منشاء جغرافیایی متفاوت در یک گروه را به عواملی همچون مهاجرت (Terral et al. 2004; Baldoni et al. 2006; Koehmstedt et al. 2011)، انتخاب ارقام وحشی زیتون (*Olea* spp.) برای برخی از صفات مربوط به میوه آن (Hannachi et al. 2008; Belaj et al. 2010) و در نهایت اصلاح جهت‌دار با استفاده از منابع ژنتیکی بومی و خارجی (Belaj et al. 2002; Sarri et al. 2006) نسبت داده‌اند.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در ارقام زیتون وجود دارد. با ارقام ایرانی و خارجی مشخص شد که ارقام ایرانی از نظر کلیه پارامترهای ژنتیکی برآورد شده نسبت به ارقام خارجی نمود بهتری داشتند که این نتیجه می‌تواند بیانگر وجود منبع ژنی غنی از زیتون در ایران باشد. از این‌رو حفاظت از این منابع ژنی امری ضروری بوده و مطالعه بیشتر در این زمینه با به‌کارگیری تعداد بیش‌تری رقم بومی و اصلاح شده ایرانی و مقایسه آن‌ها از نظر صفات دارای ارزش اقتصادی با سایر ارقام تجاری و خارجی می‌تواند مسیر تازه‌ای در اصلاح و استفاده از منابع ژنتیکی بومی را بگشاید.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از آزمایشگاه ژنتیک و ژنومیکس دانشکده کشاورزی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) که امکان انجام بخشی از رساله دکتری در قالب فرصت مطالعاتی داخل را فراهم نمودند به‌ویژه استاد ارجمند سرکار خانم دکتر فابریکی اورنگ و سرکار خانم کاووسی مسئول آزمایشگاه کمال تشکر را دارم.

منابع

Abdessemed S, Muzzalupo I, Benbouza H (2015) Assessment of genetic diversity among Algerian olive (*Olea europaea* L.) cultivars using SSR marker. Scientia Horticulturae 192:10-20.

Angiolillo A, Reale S, Pilla F, Baldoni L (2006) Molecular analysis of olive cultivars in the Molise region of Italy. Genetic Resources and Crop Evolution 53:289-295.

Arji I, Zeinanloo AA, Hajiamiri A, Najafi M (2013) An investigation into different olive cultivars responses to Sarpole Zehab environmental condition. Journal of Plant Productions 35:17-27. (In Farsi).

Baldoni L, Tosti N, Ricciolini C, Belaj A, Arcioni S, Pannelli G, Germana MA, Mulas M, Porceddu A (2006) Genetic structure of wild and cultivated olives in the central Mediterranean basin. Annals of Botany 98:935-942.

Belaj A, Dominguez-Garcia MC, Atienza SG, Martin Urdiroz N, De la Rosa R, Satovic Z, Martin A, Kilian A,

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]

Trujillo I, Valpuesta V, del Rio C (2012) Developing a core collection of olive (*Olea europaea* L.) based on molecular markers (DArTs, SSRs SNPs) and agronomic traits. Tree Genetics & Genomes 8:365-378.

Belaj A, Munoz-Diez C, Baldoni L, Satovic Z, Barranco D (2010) Genetic diversity and relationships of wild and cultivated olives at regional level in Spain. Scientia Horticulturae 124:323-330.

Belaj A, Satovic Z, Rallo L, Trujillo I (2002) Genetic diversity and relationships in olive (*Olea europaea* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. Theoretical and Applied Genetics 105:638-644.

Besnard G, Breton C, Baradat P, Khadari B, Berville A (2001) Cultivar identification in olive based on RAPD markers. Journal of American Society for Horticultural Science 126:668–675.

Biton I, Shevtsov S, Ostersetzer O, Mani Y, Lavee S, Avidan B, Ben-Ari G (2012) Genetic relationships and hybrid vigour in olive (*Olea europaea* L.) by microsatellites. Plant Breeding 131:767-774.

Breton C, Tersac M, Berville A (2006) Genetic diversity and gene flow between the wild olive (*Olea europaea* L.) and the olive: several Plio-Pleistocene refuge zones in the Mediterranean basin suggested by simple sequence repeats analysis. Journal of Biogeography 33:1916-1928.

Doyle JJ and JK Doyle (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19:11-15.

Gismondi A, Canini A (2013) Microsatellite analysis of Latial *Olea europaea* L. cultivars. Plant Biosystems 147:686-691.

Hannachi H, Breton C, Msallem M, Ben El Hadj S, El Gazzah M, Berville A (2008) Differences between native and introduced cultivars as revealed by morphology of drupes, oil composition and SSR polymorphism; a case study in Tunisia. Scientia Horticulturae 116:280-290.

Haouane H, El Bakkali A, Moukhli A, Tollon C, Santoni S, Oukabli A, El Modafar C, Khadari B (2011) Genetic structure and core collection of the World Olive Germplasm Bank of Marrakech: towards the optimised management and use of Mediterranean olive genetic resources. Genetica 139:1083-1094.

Koehmstedt AM, Aradhya MK, Soleri D, Smith JL, Polito VS (2011) Molecular characterization of genetic diversity, structure, and differentiation in the olive (*Olea europaea* L.) germplasm collection of the United States Department of Agriculture. Genetic Resources and Crop Evolution 58:519-531.

Linos A, Nikoloudakis N, Katsiotis A, Hagidimitrious M (2014) Genetic structure of the Greek olive germplasm revealed by RAPD, ISSR and SSR markers. Scientia Horticulturae 175:33-43.

Marra FP, Caruso T, Costa F, Di Vaio C, Mafrica R, Marchese A (2013) Genetic relationships, structure and parentage simulation among the olive tree (*Olea europaea* L. subsp. *europaea*) cultivated in Southern Italy revealed by SSR markers. Tree Genetics & Genomes 9:961-973.

Marrozzo T, Ciprioni G, Marconi R, Cimato A, Testolin R (2000) Isolation and characterization of microsatellite DNA in olive (*Olea europaea* L.). International Society for Horticulture Science. 4th International Symposium on Olive Growing.

Motaghi L, Mazinani SM, Jabari H (2012) Evaluation of genetic diversity in some Iranian olive cultivars using RAPD markers. Plant and Ecosystem 33:91-104. (In Farsi).

Powell W, M Morgante, C Andre, M Hanafey, J Vogel, S Tingey and A Rafalski (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2:225-238.

Prevost A and MJ Wilkinson (1999) A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. Theoretical and Applied Genetics 98:107-112.

Rouppevander Voort JN, Van Eck AM, Draaistravan J, Zandvoort PM, Jacobsen E, Bakker K (1998) An online catalogue of AFLP markers covering the potato genome. Molecular Breeding 4:73-77.

Sarri V, Baldoni L, Porceddu A, Cultrera NGM, Contento A, Frediani M, Belaj A, Trujillo I, Cionini PG (2006) Microsatellite markers are powerful tools for discriminating among olive cultivars and assigning them to defined populations. Genome 49:1606-1615.

Seifi E (2008) Self-Incompatibility of olive. Discipline of wine and horticulture school of agriculture, food, and wine faculty of science, University of Adelaide, Australia.

Terral JF, Alonso N, Capdevila RB, Chatti N, Fabre L, Fiorentino G, Marinval P, Perez Jorda G, Pradat B, Rovira N, Alibert P (2004) Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. Journal of Biogeography 31:63-77.

Zeinalabedini M, Zeinaloo A, Jamali SH, Potki P, Khayam Nekouei M, Kavand A, Ahmadi K, Abdi S, Shamskia F, Khoshkam S, Tahernejad Z, Akbar Loni A (2016) Application of microsatellite markers for identification and registration of olive cultivars. Journal of Plant Production Research 23:1-21.

Zohary D (1994) The wild genetic resources of the cultivated olive. Acta Horticulturae 356: 62-65.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-06-10]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1397.13.4.3.6]