

چند شکلی ادغامی رتروترنسپوزون‌ها و تنوع ژنتیکی در ارقام زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی انگور

Retrotransposon insertional polymorphism and genetic diversity in cultivated and wild grape genotypes

معصومه فرخ نیا^۱، بابک عبدالهی مندولکانی^{*}^۱، حامد دولتی بانه^۲، ایرج برنووسی^۱

۱- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیاران، دانشگاه ارومیه

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

Farokhnia M^۱, Abdollahi Mandoulakani B^{*۱}, Dolati Baneh H^۲, Bernousi I^۱

1. MSc Student, Associate professors, Urmia University

2. Associate professor, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center

^{*} نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: b.abdollahi@urmia.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۸)

چکیده

به منظور مطالعه چند شکلی ادغامی خانواده‌های رتروترنسپوزونی Huben, Gentil, Vine1, Edel و تنوع ژنتیکی در ۶۷ رقم زراعی و ژنوتیپ‌های وحشی انگور (*Vitis vinifera* L.) از نشانگرهای REMAP و IRAP استفاده شد. در مجموع ۱۰۳ مکان با استفاده از دو آغازگر IRAP و ۱۳ ترکیب آغازگری REMAP تولید شد که از این تعداد، ۸۳ مکان (۸۰/۵۸ درصد) چندشکل بودند. مقادیر شاخص تنوع نی برای آغازگرها از صفر (آغازگر A7-Gentil-A7) تا ۰/۳۸ (آغازگر Tvv1-808) متغیر بود. میانگین شاخص تنوع نی در کل ارقام مطالعه شده ۰/۰۰ بود. دامنه ضراوبی تشابه ژنتیکی دایس بین ارقام از ۰/۵۷ (رقم H6 با دسترچن) تا ۱/۰۰ (رقم Rše اصل با سیاه معمولی) متغیر و میانگین آن ۰/۰۰ بود. بیشترین مقادیر شاخص تنوع نی، تعداد الگوهای موثر (Ne) و شاخص اطلاعاتی شانون (I) مربوط به خانواده رتروترنسپوزونی Tvv1 و به ترتیب ۰/۳۲، ۰/۰۰ و ۰/۰۰ بود که بیانگر تحرک و چند شکلی زیاد این خانواده در ارقام مطالعه شده می‌باشد. تجزیه کلاستر براساس ضریب تشابه Dice و الگوریتم UPGMA ارقام مورد مطالعه را در شش گروه اصلی قرار داد و نمونه‌های زراعی و وحشی را از هم تمایز کرد. شباهت و تمایز ارقام براساس نتایج حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، به وسیله روش‌های مبتنی بر مدل با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.3.1 تایید شد. نتایج نشان داد خانواده‌های رتروترنسپوزونی مورد استفاده به ویژه Tvv1 در ژنوم انگور به لحاظ انتقالی فعال بوده و می‌توان از نشانگرهایی دارای تنوع نی بر این خانواده در تمایز ارقام و ژنوتیپ‌های انگور استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی

انگور

تنوع ژنتیکی

رتروترنسپوزون

IRAP

REMAP

مقدمه

مختلف باعث ایجاد چند شکلی می‌شوند. تجزیه و تحلیل توالی‌ها در گیاهان نشان داده که رتروترنسپوزون‌ها در نزدیکی توالی‌های Kalendar et al. ریزماهواره‌ای در ژنوم به وفور دیده می‌شوند (1999). مسئله حضور فعال رتروترنسپوزون‌ها در یک ژنوم کوچک مانند انگور جالب و بحث برانگیز است چرا که رتروترنسپوزون‌ها اندازه ژنوم را افزایش می‌دهند و با ادغام در نواحی مختلف ژنومی در افراد متفاوت باعث ایجاد چندشکلی و تنوع می‌شوند و می‌توان از آنها به عنوان نشانگر ملکولی در مطالعات مختلف استفاده کرد (Ramallo et al. 2008; Abdollahi 2012; Mandoulakani et al. 2012).

برای ارزیابی تنوع ژنتیکی انگور، نشانگرهای ملکولی مختلفی مانند نشانگرهای RFLP (Bowers and Meredith 1996), AFLP (Cervera et al. 1998), RAPD (Grando and Frisinghelli 1998) و SSR (Martinez et al. 2006) استفاده شده است. اخیراً از نشانگرهای ملکولی مبتنی بر رتروترنسپوزون‌ها به طور گسترده‌ای در مطالعه تنوع ژنتیکی در گیاهان استفاده می‌شود (Vukich et al. 2009; Abdollahi Mandoulakani et al. 2012; Pereira et al. 2005). Nasri et al. 2013 گزارش کردند که خانواده رتروترنسپوزونی Gret1 فراوانی بالایی در ژنوم ارقام انگور دارد و حتی در نواحی یوکروماتینی نیز به وفور دیده می‌شود. همچنین در این تحقیق نشان داده شد که نشانگرهای IRAP¹ و REMAP² مبتنی بر این رتروترنسپوزون، دارای چندشکلی ادغامی کافی برای تمایز ارقام مختلف انگور می‌باشند و می‌توانند به عنوان نشانگر ملکولی برای مطالعات مرتبط با ژنتیک گیاهی از جمله تعیین تغییرپذیری ژنتیکی و مکانیابی ژن‌ها در انگور استفاده شوند. (D'Onofrio et al. 2010)

چندشکلی ادغامی رتروترنسپوزون‌های Vine1 و Tvv1 از گروه Copia و رتروترنسپوزون Gret1 از گروه Gypsy برای مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۹ ژنوتیپ از گونه‌های مختلف جنس Vitis استفاده و گزارش کردند که این رتروترنسپوزون‌ها به وفور در ژنوم گونه‌های مختلف این جنس حضور داشته و در تکامل این جنس نقش عمده‌ای داشتند. همچنین در این تحقیق نشانگرهای S-SAP

انگور با نام علمی (*Vitis vinifera* L.) و از تیره *Amplidaceae* آن را Vitaceae می‌نامند شامل هفده جنس و ۷۰۰ گونه می‌باشد (Jedari kouhi et al. 2011). انگور یکی از مهمترین میوه‌هایی است که از زمان‌های بسیار قدیم مورد استفاده بشر قرار گرفته است. بر طبق نظر متخصصین، کشت و تولید انگور در ایران حداقل دو هزار سال پیش از میلاد متداول بوده است (Tafzili et al. 1994). در میان ارقام انگور ایرانی، فقط ارقامی با کیفیت مطلوب برای مصارف تازه‌خوری، تهیه کشمش و صنایع فرآوری نظر باudاران را به خود جلب کرده است و بقیه ارقام کمتر مورد کشت و کار قرار گرفته‌اند (Carreno et al. 2004). براساس آمارهای موجود تاکنون در حدود ۱۵۰۰۰-۵۰۰۰ رقم و چندین گونه مختلف انگور در سراسر دنیا شناسایی، نام‌گذاری و ارزیابی شده‌اند. ایران به عنوان یکی از مراکز پیدایش و پرکنش انگور در جهان از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردار است به‌طوری‌که در مناطق مختلف، از شمال تا جنوب و از شرق تا غرب، ارقام انگور وجود دارند (Karami 1995). بنا بر این تعیین میزان تنوع ژنتیکی در انگور با روش‌های موثر و کارا علاوه بر حفاظت گیاهی، در برنامه‌های بهزیادی نیز حائز اهمیت می‌باشد. (Martinez et al. 2006).

در ختیجه انگور دیپلولئید بوده و سیستم تولید مثلی آن خودگشн می‌باشد. اندازه ژنوم انگور با 38×10^8 کروموزوم در حدود 475×10^8 جفت باز است. این ژنوم ترکیبی از توالی‌های تکراری و غیر تکراری است که DNA تکراری بیش از ۹۵ درصد کل ژنوم را تشکیل می‌دهد (Grassi et al. 2002). تعیین توالی انگور نشان Jaillon et al. 2007) و رتروترنسپوزون‌ها ۱۷-۲۴ درصد از کل ژنوم انگور را تشکیل می‌دهند (Velasco et al. 2007). رتروترنسپوزون‌ها فراوان‌ترین و گسترده‌ترین عناصر جابه‌جا شونده در ژنوم یوکاریوت‌ها هستند که از طریق یک RNA حد واسط و تولید کپی‌های cDNA جدید در ژنوم جابه‌جا می‌شوند و نسخه‌های قبلی آن‌ها در نواحی قبلی پایدار می‌مانند (Flavell et al. 1998). این عناصر ژنتیکی متحرک هم در نواحی هتروکروماتینی و هم در نواحی یوکروماتینی جابه‌جا شده و با ادغام متفاوت در نواحی

¹ Inter retrotransposon amplified polymorphism

² Retrotransposon microsatellite amplified polymorphism

پیکومول از هر آغازگر در دستگاه ترموسایکلر اپندروف انجام شد. الگوی دمایی واکنش‌های PCR شامل واسرتست سازی اولیه DNA در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه و ۳۶ چرخه به صورت واسرتست‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۰ تا ۶۳ درجه سانتی‌گراد (جدول ۳) به مدت ۴۰ ثانیه، بسط به مدت ۲ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و سرانجام بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۸ درصد و بافر TBE نیم برابر در ولتاژ ثابت ۷۰ ولت به مدت ۳-۴ ساعت انجام شد. برای رنگ‌آمیزی ژل‌ها از اتیدیوم بروماید استفاده شد و عکسبرداری با استفاده از نور UV با دستگاه ژل داکیومنت مدل Gel logic212 pro. Carestream

گرفت.

تجزیه آماری داده‌ها

امتیازدهی باندهای حاصل از نشانگرهای REMAP و IRAP به صورت وجود (۱) یا عدم وجود (صفیر) باند برای هر آغازگر انجام گرفت. ماتریس تشابه ژنتیکی بین افراد با استفاده از نرم‌افزار NTSYS نسخه ۲۰۲ (Rohlf. 2000) و براساس ضریب تشابه ژنتیکی Dice تشکیل شد. برای گروه‌بندی افراد تجزیه کلاستر به روش‌های Neighbor joining و Minimum evolution، UPGMA با نرم افزار Mega4 انجام گرفت. جهت بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت و انتخاب روش مناسب گروه‌بندی از بین سه روش استفاده شده و تایید آن، از روش‌های مبتنی بر مدل در نرم‌افزار No Pritchard et al. 2000) Structure 2.3.1 MCMC admixture با ۱۰۰۰۰ بار Burn-in و ۵۰۰۰۰ بار تکرار در مقادیر مختلف K (از ۱ تا ۲۰ و ۱۰ تکرار برای هر K) استفاده شد. عدد K بهینه براساس روش delta K با استفاده از نرم‌افزار Structure Harvester تعیین شد. ماتریس ضریب تعلق افراد به هر گروه نیز با استفاده از همین نرم‌افزار محاسبه شد. پارامترهای مقادیر تنوع نی، تعداد کل مکان‌ها، تعداد مکان‌های چندشکل، درصد چندشکلی، تعداد آلل‌های موثر (Ne) و شاخص اطلاعاتی شانز (I) برای آغازگرها و برای هر خانواده رتروترنسپوزونی با استفاده از نرم‌افزار GenALEX 6.4 (Peakall and Smouse 2006) محاسبه شد.

IRAP و REMAP مبتنی بر این رتروترنسپوزون‌ها با نشانگرهای AFLP و SSR مقایسه و گزارش شد که نشانگرهای رتروترنسپوزونی REMAP بهتر از نشانگرهای دیگر روابط ژنتیکی بین نمونه‌های مورد مطالعه را نمایان می‌سازد. بنابراین با توجه به کارایی بالای نشانگرهای رتروترنسپوزونی و اینکه تاکنون از این نشانگرها برای مطالعه تنوع ژنتیکی در انگورهای ایرانی استفاده نشده، هدف از این تحقیق مقایسه فعالیت و چندشکلی ادغامی خانواده‌های رتروترنسپوزونی Tvv1، Gentil، Vine1 و Hubben Edel (از V. vinifera L.) در ژنوم انگور و امکان استفاده از نشانگرهای REMAP و IRAP مبتنی بر این خانواده‌ها برای مطالعه تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی در ۶۷ رقم زراعی و وحشی انگور کشور بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استخراج DNA در این تحقیق ۶۷ ژنوتیپ انگور شامل ۵۵ رقم زراعی و ۱۲ ژنوتیپ وحشی موجود در باغ کلکسیون ایستگاه تحقیقات باطنی کهریز وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی استفاده شد (جدول ۱). برگ‌های جوان (۲-۵ سانتی‌متری) از هر رقم برداشت شده و در نیتروژن مایع منجمد و به فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. DNA ژنومی از برگ-های جوان گیاهان به روش Ausubel et al. 1995) CTAB استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA ژنومی به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد.

واکنش‌های PCR برای نشانگرهای REMAP و IRAP در این تحقیق از ۱۰ آغازگر REMAP و ۳۰ آغازگر IRAP استفاده شد (جدول ۲ و ۳). ابتدا آغازگرها بر روی ۶ ژنوتیپ ارزیابی و آغازگرهایی که الگوی باندی واضح و قابل اسکوردهی تولید کردند بر روی همه نمونه‌ها استفاده شدند. واکنش‌های PCR برای نشانگرهای REMAP و IRAP در حجم میکرولیتری حاوی ۴۵ نانوگرم DNA ژنومی، بافر PCR یک برابر ۱/۵ میلی‌مول Tris-HCl، ۵۰ میلی‌مول KCL (pH=۸/۳)، ۰/۵ میلی‌مول MgCl₂، ۰/۲ میکرومول از هر کدام dNTP، آنزیم Taq پلیمراز (شرکت سیناکلون، تهران، ایران) و ۱۰

جدول ۱- مشخصات ارقام و ژنوتیپ‌های انگور استفاده شده در این تحقیق. همه ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه متعلق به گونه *Vinifera* می‌باشند.

| منشاء | رقم | کد رقم | منشاء | رقم | کد رقم |
|-------------------|-----------------|--------|------------------|-----------------|--------|
| ایران | آغ شانی | C43 | ایران | رزقی | C1 |
| ایران | جیجع جیغا | C44 | ایران | حسینی | C2 |
| ایران | لعل سفید | C45 | ایران | تبرزه سفید | C3 |
| ایران | کلکه ریوی | C46 | ایران | قره ملحي | C4 |
| ایران | سیاه معمولی | C47 | ایران | ات او زوم | C6 |
| ایران | شیرازی | C49 | ایران | لعل سیاه | C7 |
| ایران | انگوتکه | C50 | ایران | سیاه سردشت | C8 |
| آمریکا | لابروسکا | C51 | ایران | گرمیان | C9 |
| ایران | گلین بارماقی | C53 | ایران | مایه مو | C10 |
| ایران | اکوز گوزی | C54 | ایران | ریش باباقرمز | C11 |
| آفریقا | موسکات | C56 | ایران | کشمش قرمز | C13 |
| ایران | خلیلی شیرازی | C57 | ایران | فخری | C14 |
| آمریکا | رابی سیدلیس | C59 | ایران | شاهروندی | C15 |
| آمریکا | پرلت | C60 | ایران | صاحبی | C17 |
| ایران | رشه اصل | C62 | ایران | تبرزه قرمز | C20 |
| آمریکا | بلاک سیدلیس | C63 | ایران | دستچین | C21 |
| آمریکا | فیلم سیدلیس | C64 | ایران | ریش باباسفید | C22 |
| ایران | تامسول سیدلیس | C65 | ایران | خلیلی سفید | C25 |
| * هیبرید بین گونه | H6 | C67 | ایران | گوی ملکی | C26 |
| ایران | یاقوتی اصل | C68 | ایران | سایانی | C27 |
| امریکا | سوپریور | C70 | ایران | کلاتی | C28 |
| ایران | لعل قرمز | C30 | ایران | مام برایمه | C29 |
| ایران | سفید شخ شخ | C31 | ایران | بول مازو | C30 |
| ایران-پیرانشهر | وحشی پیرانشهر ۳ | W73 | ایران | قره شیره | C32 |
| ایران-پیرانشهر | وحشی پیرانشهر ۴ | W74 | ایران | الحقی | C33 |
| ایران-پیرانشهر | وحشی پیرانشهر ۵ | W75 | ایران | عسگری | C34 |
| ایران-پیرانشهر | وحشی پیرانشهر ۶ | W76 | ایران | بیدانه سفید | C35 |
| ایران-پیرانشهر | وحشی پیرانشهر ۷ | W77 | ایران | سرقوله | C37 |
| ایران-پیرانشهر | وحشی پیرانشهر ۸ | W78 | ایران | چاوه گا | C38 |
| ایران-سردشت | وحشی سردشت ۱ | W81 | ایران | یاقوتی | C39 |
| ایران-سردشت | وحشی سردشت ۲ | W82 | ایران | قره گندمه | C40 |
| ایران-سردشت | وحشی سردشت ۳ | W83 | ایران | گزندابی | C41 |
| ایران-سردشت | وحشی سردشت ۴ | W84 | ایران-پیرانشهر ۱ | وحشی پیرانشهر ۱ | W71 |

(*) هیبرید بین Kober Fbb و قره او زوم

جدول ۲- نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق

| نام آغازگر | نوع آغازگر | توالی آغازگر ($5' \rightarrow 3'$) |
|------------|---------------|--------------------------------------|
| Vine1 | رتروترنسپوزون | TTCAGCACTCTCATCAATAA |
| Tvv1 | رتروترنسپوزون | ATTCTTCTATCCTGCCGTGG |
| Gentil | رتروترنسپوزون | CTGTACATGACGAATGAA |
| Huben | رتروترنسپوزون | TTTGCTCTGTGTATAT |
| Edel | رتروترنسپوزون | CGAACACACGTAAACTGT |
| A7 | ISSR | AGAGAGAGAGAGAGAGAGT |
| UBC808 | ISSR | AGAGAGAGAGAGAGAGC |
| UBC840 | ISSR | ACACACACACACACACC |
| UBC820 | ISSR | AGAGAGAGAGAGAGAGY*T |
| UBC849 | ISSR | GAGAGAGAGAGAGAGAYT |
| UBC867 | ISSR | GTGTGTGTGTGTGTYA |
| UBC857 | ISSR | ACACACACACACACACYT |

* Y معرف پیریمیدین (C/T) می‌باشد.

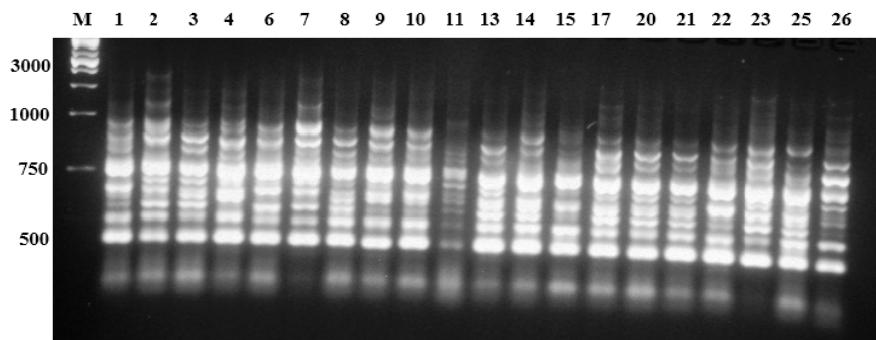
جدول ۳- آغازگرهای REMAP و IRAP مورد استفاده و خصوصیات آن‌ها

| آغازگر | سانتی گراد | تکثیری | چندشکل | تنوع نی | تعداد آلر | شانون | دامنه باندی (جفت باز) |
|---------------|------------|--------|--------|---------|-----------|-------|--------------------------|
| Tvv1 | ۵۵ | ۷ | ۸۵ | ۰/۳۳ | ۱/۵۵ | ۰/۴۹ | ۵۰۰-۲۰۰۰ |
| Tvv1+Edel | ۵۶ | ۵ | ۸۰ | ۰/۳۱ | ۱/۵۱ | ۰/۴۵ | ۱۵۰-۱۵۰۰ |
| Tvv1+UBC820 | ۵۰ | ۵ | ۸۰ | ۰/۲۷ | ۱/۴۲ | ۰/۴۲ | ۷۵-۱۵۰۰ |
| Tvv1+UBC849 | ۶۰ | ۷ | ۸۵ | ۰/۳۸ | ۱/۷۰ | ۰/۵۴ | ۷۵-۲۰۰۰ |
| Tvv1+UBC840 | ۵۳ | ۱۰ | ۹۰ | ۰/۲۷ | ۱/۴۲ | ۰/۴۱ | ۷۵-۲۰۰۰ |
| Tvv1+UBC867 | ۵۳ | ۱۰ | ۹۰ | ۰/۳۸ | ۱/۶۹ | ۰/۵۸ | ۷۵-۲۰۰۰ |
| Tvv1+A7 | ۵۵ | ۶ | ۸۳ | ۰/۲۸ | ۱/۴۵ | ۰/۴۲ | ۵۰۰-۲۰۰۰ |
| Vine1+UBC820 | ۶۰ | ۶ | ۸۳ | ۰/۲۶ | ۱/۴۱ | ۰/۴۱ | ۷۵-۲۰۰۰ |
| Vine1+A7 | ۵۶ | ۸ | ۸۷ | ۰/۳۴ | ۱/۴۷ | ۰/۴۶ | ۵۰۰-۲۰۰۰ |
| Gentil+A7 | ۶۰ | ۶ | ۸۰ | ۰/۰ | ۱/۰۰ | ۰ | ۱۵۰-۱۵۰۰ |
| Gentil+UBC849 | ۵۰ | ۷ | ۸۵ | ۰/۱۸ | ۱/۲۷ | ۰/۲۹ | ۱۰۰-۲۰۰۰ |
| Edel+UBC867 | ۵۰ | ۶ | ۸۳ | ۰/۲۶ | ۱/۳۹ | ۰/۴۰ | ۱۰۰-۱۵۰۰ |
| Edel+A7 | ۵۶ | ۷ | ۸۵ | ۰/۲۶ | ۱/۴۸ | ۰/۴۴ | ۱۵۰-۲۰۰۰ |
| Edel+UBC857 | ۵۰ | ۶ | ۸۳ | ۰/۲۱ | ۱/۳۶ | ۰/۳۲ | ۷۵-۱۵۰۰ |
| Huben+A7 | ۶۳ | ۷ | ۸۵ | ۰/۳۲ | ۱/۵۲ | ۰/۴۷ | ۵۰۰-۲۵۰۰ |
| کل | - | ۱۰۳ | ۸۳ | ۱۱۸۴ | - | - | - |
| میانگین | - | ۶/۸۶ | ۵/۵۳ | ۷۸/۹۳ | ۰/۴۰ | ۱/۴۴ | - |

کردند (جدول ۳). ۱۵ آغازگر رتروترنسپوزونی در مجموع ۱۰۳ مکان چند شکل در ۶۷ ژنوتیپ انگور تکثیر کردند که از این تعداد ۸۳ مکان (۸۰/۵۸ درصد) چندشکل (شکل ۱) بودند. دامنه باندهای تولید شده از ۷۵ تا ۲۵۰۰ جفت باز متغیر بود. میزان

نتایج و بحث

در بررسی تنوع ژنتیکی بین ۵۵ رقم زراعی و ۱۲ ژنوتیپ وحشی انگور از ۴۰ آغازگر منفرد و ترکیبی REMAP و IRAP استفاده شد. از بین آغازگرهای مورد استفاده، ۲ آغازگر IRAP و ۱۳ آغازگر REMAP الگوی باندی واضح و قابل امتیازدهی تولید



شکل ۱- الگوی باندی تکثیر شده توسط آغازگر *Vine1-A7*. (M) نشانگر اندازه (جفت باز): ۱) رزقی؛ ۲) حسینی؛ ۳) تبرزه سفید؛ ۴) قره ملحق؛ ۶) ات او زوم؛ ۷) لعل سیاه؛ ۸) سیاه سردشت؛ ۹) گرمیان، ۱۰) مایه مو؛ ۱۱) ریش بابا قرمز؛ ۱۲) کشمکش قرمز؛ ۱۴) فخری؛ ۱۵) شاهروندی؛ ۱۷) صاحبی؛ ۲۰) تبرزه قرمز؛ ۲۱) دسترنجین؛ ۲۲) دسترنجین؛ ۲۳) خلیلی سفید؛ ۲۴) گوی ملکی؛ ۲۵) سایانی.

نشان داد. هم‌چنین انگور رشه اصل و کلون آن یعنی رقم خوشناسو (سیاه معمولی) در یک گروه قرار گرفتند. ارقام خارجی انگور در گروه دوم قرار گرفتند. در این گروه تشابه ژنتیکی بالایی بین ارقام پرلت و سوپریور مشاهده شد. میزان تشابه ژنتیکی بین ارقام از ۰/۵۷ (رقم H6 با دسترنجین) تا یک (رقم رشه اصل با سیاه معمولی و کشمکشی قرمز با بیدانه سفید) متغیر و میانگین آن ۰/۷۸ است.

به منظور تعیین و تایید گروه‌های متمایز حاصل از تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تجزیه ساختار ژنتیکی ارقام مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.3.1 انجام گرفت. بر این اساس سه گروه احتمالی ($K=3$) در بین ارقام مورد مطالعه شناسایی شد و مقدار $3K=9$ مناسب‌ترین عدد برای محاسبه متوسط شاخص ثبت (Fst) برای هر گروه برآورد شد (شکل ۳). متوسط شاخص ثبت برای گروه‌های احتمالی I، II و III به ترتیب ۰/۱۸، ۰/۱۸ و ۰/۴۱ بود. هر چند تعداد گروه‌های حاصل با تعداد گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر به روش UPGMA متفاوت بود ولی تشابه ژنتیکی و مجاورت ارقام براساس دو روش مطابقت بالایی داشت. در همه گروه‌ها مقادیر متوسط Fst نسبتاً بالا بود که نشان‌دهنده متمایز بودن ارقام مورد مطالعه در سه گروه احتمالی است. ماتریس سهم عضویت افراد در این گروه‌ها (جدول ۵) نیز نشان داد که ارقام با ضرایب بالایی به یک گروه تعلق دارند.

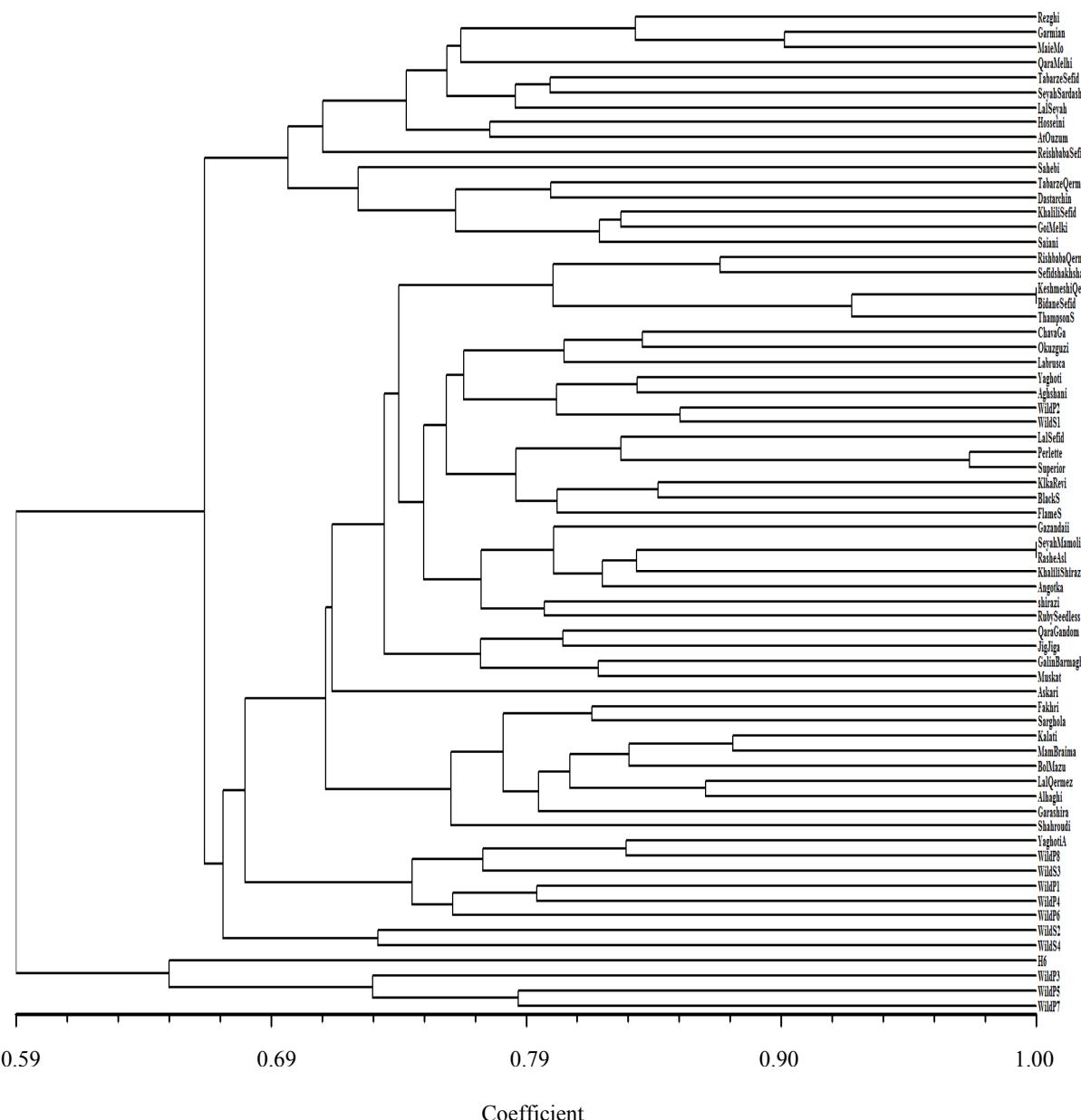
شاخص تنوع نی برای آغازگرها از صفر (آغازگر A7) تا ۰/۳۸ (آغازگر *Tvv1-808*) متغیر و میانگین آن ۰/۲۷ بود. دامنه شاخص اطلاعاتی شانون نیز برای آغازگرها از صفر (آغازگر A7) تا ۰/۵۷ (آغازگر *Tvv1-808*) متغیر و میانگین آن ۰/۴۰ محاسبه شد.

مقایسه خانواده‌های رتروترنسپوزونی به لحاظ میزان چندشکلی در ارقام مورد مطالعه نشان داد بیشترین تعداد مکان تکثیر شده (۵۰) مربوط به خانواده *Tvv1* و کمترین تعداد مکان تکثیر شده (۷) مربوط به خانواده Huben بود. میانگین تعداد مکان به ازای هر خانواده رتروترنسپوزونی، ۲۱/۶ بود. بیشترین و کمترین درصد مکان‌های چندشکل به ترتیب مربوط به خانواده‌های *Tvv1* (۸۶) و *Gentil* (۴۶/۱۵) بود. میانگین شاخص تنوع نی در خانواده‌های رتروترنسپوزونی از ۰/۰۱ (Gentil) تا ۰/۳۲ (*Tvv1*) متغیر و میانگین آن برابر ۰/۲۵ بود (جدول ۴). تجزیه کلاستر به روش UPGMA و ضریب تشابه دایس براساس داده‌های مربوط به هر خانواده (دندروگرام‌های مربوط به هر خانواده ارائه نشده است) نشان داد که خانواده‌های Huben و Edel نسبت به خانواده‌های دیگر ارقام زراعی و وحشی را بطور موثرتری از همدیگر متمایز می‌سازند.

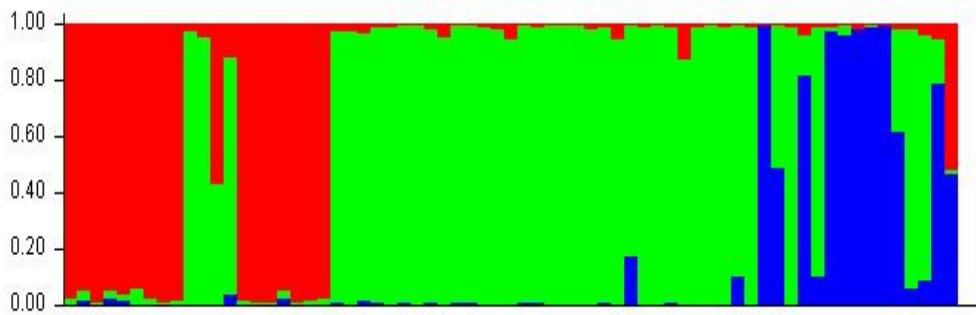
تجزیه کلاستر براساس ضریب تشابه Dice و الگوریتم UPGMA (شکل ۲) ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در شش گروه قرار داد و ارقام زراعی و نمونه‌های وحشی را از هم متمایز کرد. انگور بی-دانه سفید و کشمکشی قرمز با انگور تامسون سیدلیس تشابه بالایی

جدول ۴- مقایسه خانواده‌های رتروترنسپوزونی به لحاظ میزان تنوع در ژنوتیپ‌های انگور

| خانواده رتروترنسپوزون | مانگین | تعداد آغازگر | تعداد مکان | درصد چندشکلی | مانگین تنوع نی | تعداد آل‌های موثر | شاخص شانون |
|-----------------------|--------|--------------|------------|--------------|----------------|-------------------|-------------|
| Tvv1 | - | ۷ | ۵۰ | ۸۶ | ۰/۰۲ ± ۰/۳۲ | ۰/۰۵ ± ۱/۵۴ | ۰/۴۷ ± ۰/۰۳ |
| Vine1 | - | ۲ | ۱۴ | ۸۵/۷۱ | ۰/۰۴ ± ۰/۲۸ | ۰/۰۷ ± ۱/۴۴ | ۰/۴۳ ± ۰/۰۶ |
| Edel | - | ۴ | ۲۴ | ۸۳/۳۳ | ۰/۰۳ ± ۰/۲۶ | ۰/۰۷ ± ۱/۴۳ | ۰/۴۰ ± ۰/۰۵ |
| Gentil | - | ۲ | ۱۳ | ۴۶/۱۵ | ۰/۰۴ ± ۰/۰۹ | ۰/۰۷ ± ۱/۱۴ | ۰/۱۵ ± ۰/۰۶ |
| Huben | - | ۱ | ۷ | ۸۵/۷۱ | ۰/۰۶ ± ۰/۲۸ | ۰/۱۳ ± ۱/۴۵ | ۰/۴۵ ± ۰/۰۹ |
| مانگین | - | - | ۲۱/۶ | ۷۷/۳۸ | ۰/۲۵ ± ۰/۰۴ | ۱/۴۰ ± ۰/۰۷ | ۰/۳۸ ± ۰/۱۱ |



شکل ۲- دندروگرام ۶۷ ژنوتیپ انگور با استفاده از ضربی تشابه Dice و الگوریتم UPGMA براساس نشانگرهای WildP, REMAP+IRAP و حشی پیرانشهر؛ (WildP) وحشی سردشت؛ (BlackS) TampsonS؛ (FlameS) WildS؛ (H⁵) فلم سیدلس.



شکل ۳- بارپلاٹ رسم شده توسط نرم‌افزار Structure 2.3.1 بر مبنای داده‌های حاصل از نشانگرهای IRAP+REMAP در مقدار $K=3$ در رقم ۶۷. رنگ انگور. هر رنگ نشان دهنده یک گروه احتمالی بوده و اعداد روی محور عمودی میزان تعلق افراد هر گروه به گروه احتمالی مربوطه را نشان می‌دهد.

آغازگری REMAP از بین ترکیبات آغازگری Vine1+A7 بیشترین تعداد باند و ۸۷ درصد چندشکلی در ارقام مورد مطالعه ایجاد کرد که بیانگر حضور زیاد رتروترنسپوزون1 Vine1 در نزدیکی موتیف‌های ریزماهواره‌ای مربوط به آغازگر A7 (AG) در ژنوم انگور می‌باشد. خانواده‌های رتروترنسپوزونی دیگر نیز در ترکیب با موتیف‌های ریزماهواره‌ای الگوی باندی واضح و چندشکل ایجاد کردند که بیانگر حضور و درج این عناصر رتروترنسپوزونی در نزدیک توالی‌های ریزماهواره‌ای در ژنوم انگور می‌باشد. حضور خانواده‌های رتروترنسپوزونی مختلف در نزدیکی مایکروستلایت‌ها در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است (Smykal et al. 2011; Abdollahi Mandoulakani et al. 2012; Nasri et al. 2013). معمولاً نشانگرهای REMAP چندشکلی بیشتری نسبت به نشانگرهای IRAP تولید می‌کند و تعداد تکرار توالی‌های رتروترنسپوزونی موجود در ژنوم را بهتر نشان می‌دهند (Kalendar et al. 1999). در مطالعه حاضر نیز تعداد بیشتری از آغازگرها REMAP در مقایسه با آغازگرها IRAP الگوی باندی واضح و چندشکل تولید کردند.

دامنه ضریب تشابه ژنتیکی دایس بین ارقام مورد مطالعه از ۰/۵۷ تا ۱/۰۷۸ متغیر و میانگین آن ۰/۴۰ بود. میانگین شاخص تنوع نی و شاخص اطلاعاتی شانون به ترتیب ۰/۲۷ و ۰/۴۰ بود که نشان دهنده‌ی تنوع ژنتیکی مناسبی بین ژنوتیپ‌های انگور مورد مطالعه است. (Kocsis et al. 2008) در مطالعه تنوع ژنتیکی ۱۲ رقم انگور با استفاده از نشانگرهای RAPD ضریب تشابه ژنتیکی بین ۰/۴۱ تا ۰/۶۴ را گزارش کردند. تفاوت‌های مشاهده شده بین این

در این تحقیق از ۱۵ آغازگر IRAP و REMAP برای مطالعه الگوی توزیع و چندشکلی ادغامی برخی خانواده‌های رتروترنسپوزونی و همچنین تنوع ژنتیکی در ۶۷ رقم زراعی و وحشی انگور استفاده شد. آغازگر مبتنی بر خانواده Tvv1 هم در حالت منفرد و هم در ترکیب با خانواده Edel، الگوی باندی واضح و قابل امتیازدهی ایجاد کرد که نشان دهنده نزدیکی و درج عناصر این خانواده در مجاورت همدیگر و همچنین ادغام آن در نزدیکی خانواده رتروترنسپوزونی Edel در ژنوم انگور می‌باشد. در مقایسه خانواده‌های مطالعه شده به لحاظ درصد چندشکلی، خانواده Tvv1 بیشترین تعداد مکان به ازای هر آغازگر و بیشترین درصد چندشکلی (۸۶ درصد) را تولید کرد. این امر نشانگر تعداد بالای کپی این خانواده و همچنین فعالیت و چندشکلی ادغامی زیاد این خانواده در ژنوم انگورهای ایرانی می‌باشد. D'Onofrio et al. (2010) در مطالعه چندشکلی ادغامی دو رتروترنسپوزون Vitis و Vine1 در ۲۹ ژنوتیپ از گونه‌های مختلف جنس Vitis گزارش کردند که این رتروترنسپوزون‌ها در ژنوم گونه‌های مختلف جنس Vitis فراوانی بالایی داشته و قبل از واگرایی گونه‌های مختلف این جنس، فعال و در تکامل گونه‌های آن نقش عمده‌ای داشته‌اند. در این مطالعه نشانگرهای مبتنی بر این دو خانواده قادر بودند ارقام و گونه‌های مختلف را از هم تمایز کنند. آغازگرها مبتنی بر خانواده‌های رتروترنسپوزونی Gentil, Huben و Vine1 در حالت منفرد نتوانستند الگوی باندی واضحی ایجاد کنند در حالی که در ترکیب با آغازگرها ISSR باندهای واضح و چندشکل ایجاد کردند به طوری که ترکیب

جدول ۵- ماتریس سهم عضویت ارقام انگور در هر کلاستر براساس محاسبات نرم افزار K=۳ Structure 2.3.1 در ۳

| گروه | | | ارقام | کد | گروه | | | ارقام | کد |
|-------|-------|--------|-----------------|----|-------|-------|-------|---------------|----|
| ۱ | ۲ | ۳ | | | ۱ | ۲ | ۳ | | |
| ۰/۰۰۹ | ۰/۹۸۶ | ۰/۰۰۵ | آغ شانی | ۴۳ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۱۵ | ۰/۹۷۸ | رزقی | ۱ |
| ۰/۰۱۳ | ۰/۹۷۹ | ۰/۰۰۹ | جیع جیغا | ۴۴ | ۰/۰۲۱ | ۰/۰۳۵ | ۰/۹۴۵ | حسینی | ۲ |
| ۰/۰۰۶ | ۰/۹۸۹ | ۰/۰۰۵ | لعل سفید | ۴۵ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۰۴ | ۰/۹۹۱ | تبرزه سفید | ۳ |
| ۰/۰۰۶ | ۰/۹۸۹ | ۰/۰۰۵ | کلکه ریوی | ۴۶ | ۰/۰۲۴ | ۰/۰۳۰ | ۰/۹۴۶ | قره ملحی | ۴ |
| ۰/۰۰۴ | ۰/۹۹۰ | ۰/۰۰۶ | سیاه معمولی | ۴۷ | ۰/۰۱۷ | ۰/۰۲۰ | ۰/۹۶۴ | ات او زوم | ۶ |
| ۰/۰۰۶ | ۰/۹۷۳ | ۰/۰۲۱ | شیرازی | ۴۹ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۵۹ | ۰/۹۳۶ | لعل سیاه | ۷ |
| ۰/۰۱۲ | ۰/۹۷۸ | ۰/۰۱۰ | انگوتکه | ۵۰ | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۲۰ | ۰/۹۷۳ | سیاه سردشت | ۸ |
| ۰/۰۰۴ | ۰/۹۴۴ | ۰/۰۵۲ | لابروسکا | ۵۱ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۱۰ | ۰/۹۸۷ | گرمیان | ۹ |
| ۰/۱۷۱ | ۰/۸۲۲ | ۰/۰۰۶ | گلین بارماقی | ۵۳ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۱۵ | ۰/۹۸۱ | مایه مو | ۱۰ |
| ۰/۰۰۶ | ۰/۹۸۴ | ۰/۰۱۰ | اکوز گوزی | ۵۴ | ۰/۰۰۶ | ۰/۹۶۹ | ۰/۰۲۶ | ریش بابا قرمز | ۱۱ |
| ۰/۰۰۶ | ۰/۹۹۰ | ۰/۰۰۴ | موسکات | ۵۶ | ۰/۰۰۲ | ۰/۹۵۵ | ۰/۰۴۳ | کشمکش قرمز | ۱۳ |
| ۰/۰۱۲ | ۰/۹۷۸ | ۰/۰۱۰ | خلیلی شیراز | ۵۷ | ۰/۰۰۵ | ۰/۴۲۱ | ۰/۵۶۶ | فخری | ۱۴ |
| ۰/۰۰۶ | ۰/۸۶۸ | ۰/۱۲۶ | رایی سیدلیس | ۵۹ | ۰/۰۳۸ | ۰/۸۴۷ | ۰/۱۱۵ | شهرودی | ۱۵ |
| ۰/۰۰۵ | ۰/۹۸۶ | ۰/۰۰۹ | پرت | ۶۰ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۱۳ | ۰/۹۸۱ | صاحبی | ۱۷ |
| ۰/۰۰۴ | ۰/۹۹۱ | ۰/۰۰۴ | رشه اصل | ۶۲ | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۰۴ | ۰/۹۹۲ | تبرزه قرمز | ۲۰ |
| ۰/۰۰۷ | ۰/۹۸۴ | ۰/۰۰۹ | بلاک سیدلیس | ۶۳ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۰۵ | ۰/۹۹۲ | دسترنجین | ۲۱ |
| ۰/۱۰۵ | ۰/۸۹۰ | ۰/۰۰۶ | فیلم سیدلیس | ۶۴ | ۰/۰۲۵ | ۰/۰۲۷ | ۰/۹۴۹ | ریش بابا سفید | ۲۲ |
| ۰/۰۰۴ | ۰/۹۸۵ | ۰/۰۱۱ | تامسون سیدلیس | ۶۵ | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۰۵ | ۰/۹۸۸ | خلیلی سفید | ۲۳ |
| ۰/۹۹۵ | ۰/۰۰۳ | ۰/۰۰۲ | H6 | ۶۷ | ۰/۰۰۵ | ۰/۰۰۹ | ۰/۹۸۵ | گوی ملکی | ۲۵ |
| ۰/۴۸۸ | ۰/۵۰۷ | ۰/۰۰۵ | یاقوتی اصل | ۶۸ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۲۰ | ۰/۹۷۴ | سایانی | ۲۶ |
| ۰/۰۰۶ | ۰/۹۸۶ | ۰/۰۰۸ | سوپریور | ۷۰ | ۰/۰۰۸ | ۰/۹۷۰ | ۰/۰۲۲ | کلاتی | ۲۷ |
| ۰/۸۱۶ | ۰/۱۴۷ | ۰/۰۳۸ | وحشی پیرانشهر ۱ | ۷۱ | ۰/۰۰۸ | ۰/۹۷۰ | ۰/۰۲۳ | مام برایمه | ۲۸ |
| ۰/۱۰۷ | ۰/۸۸۵ | ۰/۰۰۸ | وحشی پیرانشهر ۲ | ۷۲ | ۰/۰۱۶ | ۰/۹۵۳ | ۰/۰۳۱ | بول مازو | ۲۹ |
| ۰/۹۷۷ | ۰/۰۱۵ | ۰/۰۰۸ | وحشی پیرانشهر ۳ | ۷۳ | ۰/۰۱۱ | ۰/۹۸۱ | ۰/۰۰۸ | لعل قرمز | ۳۰ |
| ۰/۹۶۴ | ۰/۰۲۹ | ۰/۰۰۷ | وحشی پیرانشهر ۴ | ۷۴ | ۰/۰۰۵ | ۰/۹۸۷ | ۰/۰۰۸ | سفید شخ شخ | ۳۱ |
| ۰/۹۷۹ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۱۵ | وحشی پیرانشهر ۵ | ۷۵ | ۰/۰۱۲ | ۰/۹۸۴ | ۰/۰۰۵ | قره شیره | ۳۲ |
| ۰/۹۸۸ | ۰/۰۰۸ | ۰/۰۰۴ | وحشی پیرانشهر ۶ | ۷۶ | ۰/۰۰۴ | ۰/۹۸۹ | ۰/۰۰۷ | الحقی | ۳۳ |
| ۰/۹۹۲ | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۰۳ | وحشی پیرانشهر ۷ | ۷۷ | ۰/۰۱۰ | ۰/۹۷۱ | ۰/۰۱۹ | عسکری | ۳۴ |
| ۰/۶۱۹ | ۰/۳۶۵ | ۰/۰۱۶ | وحشی پیرانشهر ۸ | ۷۸ | ۰/۰۰۲ | ۰/۹۵۱ | ۰/۰۴۶ | بیدانه سفید | ۳۵ |
| ۰/۰۶۴ | ۰/۹۲۰ | ۰/۰۱۶ | وحشی سردشت ۱ | ۸۱ | ۰/۰۰۸ | ۰/۹۸۴ | ۰/۰۰۷ | سر قوله | ۳۷ |
| ۰/۰۹۱ | ۰/۸۶۷ | ۰/۰۴۲ | وحشی سردشت ۲ | ۸۲ | ۰/۰۰۸ | ۰/۹۸۶ | ۰/۰۰۶ | چاهه گا | ۳۸ |
| ۰/۷۸۶ | ۰/۱۶۰ | ۰/۰۵۴ | وحشی سردشت ۳ | ۸۳ | ۰/۰۰۶ | ۰/۹۸۳ | ۰/۰۱۱ | یاقوتی | ۳۹ |
| ۰/۴۶۵ | ۰/۰۱۵ | ۰/۰۵۲۰ | وحشی سردشت ۴ | ۸۴ | ۰/۰۰۵ | ۰/۹۷۵ | ۰/۰۱۹ | قره گندمه | ۴۰ |
| | | | | | ۰/۰۰۳ | ۰/۹۴۱ | ۰/۰۵۶ | گزندایی | ۴۱ |

ریزماهواره هسته‌ای گزارش کردند که تشابه ژنتیکی زیادی بین انگور سیاه معمولی و انگورهای وحشی منطقه وجود ندارد. این نتایج نشان می‌دهد با وجود این‌که دندروگرام حاصل، ارقام مورد مطالعه را از هم تفکیک کرد ولی گروه‌بندی ارقام تحت تاثیر مبدأ جغرافیایی قرار نگرفت، بنابراین به نظر می‌رسد که در برنامه‌های دورگ‌گیری انگور از فاصله ژنتیکی به جای فاصله جغرافیایی استفاده شود. در تحقیق حاضر براساس نتایج حاصل از نشانگرهای رتروترنسپوزونی مورد استفاده، حالت سینوئیمی (یک رقم با دو اسم) بین ارقام رشه و سیاه معمولی (خوشناس) در بین انگورهای مورد بررسی مشخص شد. همچنین حالت‌هایی نیز از هموئیمی (ارقام متفاوت با اسمی یکسان) بین انگورهای ریش بابا سفید و ریش بابا قرمز مشاهده شد که احتمال کلون بودن آن‌ها فرض می‌شد. این ارقام در دندروگرام حاصل کاملاً مجزا از هم بوده و در گروه‌های متفاوت قرار گرفتند. Dolati Baneh et al. (2007) براساس نشانگرهای SSR و براساس نتایج حاصله از روابط والد-ناتج گزارش کردند که انگور ریش بابا قرمز یکی از والدین احتمالی انگور ریش بابا سفید بوده است.

در کل اطلاعات حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از نشانگرهای IRAP و REMAP در جهت شناسایی و گروه‌بندی ارقام انگور مفید می‌باشد و تنوع نسبتاً خوبی در کلکسیون ارقام انگور مطالعه شده وجود دارد که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی انگور مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به این‌که هر خانواده رتروترنسپوزونی الگوی توزیع و تاریخچه ادغامی متفاوتی در ژنوم دارد و هر خانواده در نواحی ژنومی متفاوتی اعم از یوکروماتینی و هتروکروماتینی ادغام می‌شوند توصیه می‌شود که از خانواده‌های رتروترنسپوزونی مختلف در مطالعات مرتبط در انگور و گیاهان دیگر استفاده شود تا پوشش ژنومی مناسبی حاصل شود. همچنین با توجه به اتمام توالی‌بایی ژنوم انگور و کارایی بالای نشانگرهای IRAP و REMAP بهتر است خانواده‌های رتروترنسپوزونی دیگر نیز در ژنوم این گیاه شناسایی شده و کارایی آن‌ها به عنوان نشانگر ملکولی مورد بررسی قرار گیرد. البته جهت پیشرفت اساسی در روش‌های انتخاب و استراتژی بهثدادی توصیه می‌شود تجزیه و تحلیل این نشانگرها همراه با نشانگرهای ژنی و داده‌های فنوتیپی صورت گیرد. براساس نتایج حاصل از

تحقیق و مطالعه حاضر را می‌توان به تفاوت در تعداد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و نوع نشانگرهای مورد استفاده نسبت داد. تجزیه خوشبایی به روش UPGMA براساس ضریب تشابه دایس ارقام مورد مطالعه را در شش گروه اصلی قرار داد (شکل ۲). تمامی ارقام انگور بی‌دانه (به غیر از یاقوتی) در یک گروه (گروه ۲) قرار گرفتند. در این گروه که بزرگترین گروه حاصل از تجزیه کلاستر ارقام مورد مطالعه بود ارقام بی‌دانه سفید و کشمکش قرمز با فاصله ژنتیکی کم در مجاورت هم واقع شدند که می‌تواند نمایانگر وجود روابط ژنتیکی بین آن‌ها باشد. همچنین ارتباط ژنتیکی نزدیکی بین این دو انگور و انگور تامسون سیدلیس مشاهده شد. انگور تامسون سیدلیس کلونی پر بار و زودرس از انگور بی‌دانه سفید است که در اثر وقوع جهش‌های اتفاقی به دست آمده است (Dolati Baneh et al. 2007). بنابراین قرارگیری این ارقام در یک گروه در مجاورت هم قابل انتظار می‌باشد. رقم رشه اصل با سیاه معمولی (خوشناس) در این کلاستر در مجاورت هم قرار گرفته‌اند. رقم سیاه معمولی یا خوشناس کلونی پر بار از انگور رشه اصل است (Dolati Baneh et al. 2007). همچنین این ارقام تشابه ژنتیکی نزدیکی با رقم خلیلی شیراز نشان دادند. در تحقیق Dolati Baneh et al. (2007) با نشانگرهای AFLP نیز رقم‌های رشه و خوشناس در یک کلاستر با فاصله کم در مجاورت هم قرار گرفتند. همچنین در این گروه دو رقم پرلت و سوپریور تشابه بسیار بالایی نشان دادند. دندروگرام حاصل، انگورهای زراعی و وحشی مورد مطالعه در پژوهش حاضر را از هم متمایز کرد. هر چند که در گروه انگورهای زراعی چند نمونه انگور وحشی نیز قرار گرفت. در این گروه نیز ارتباط نزدیکی بین انگور سیاه معمولی و انگوتکه و ژنوتیپ وحشی S1 دیده شد. این سه نمونه متعلق به منطقه سردشست هستند. Renger et al. (2004) به منظور بررسی تغییرات ژنتیکی در ۸۷ نمونه از انگورهای وحشی و زراعی از نشانگرهای SSR و مورفو‌لوزیک استفاده کردند. نتایج آن‌ها رابطه نزدیکی بین انگورهای وحشی و ارقام زراعی نشان داد و لی تنوع ژنتیکی بالایی در نمونه‌های انگور وحشی مشاهده شد. Dolati Baneh et al. (2007) نیز براساس نشانگرهای ریزماهواره کلروپلاستی گزارش کردند که رقم سیاه معمولی و ژنوتیپ‌های وحشی منطقه سردشست دارای هاپلوتیپ مشترک هستند. اما براساس نتایج

سپاسگزاری

از پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه به خاطر تامین امکانات آزمایشگاهی و از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی به دلیل فراهم کردن نمونه‌های گیاهی قدردانی می‌شود.

تحقیق حاضر خانواده *Tvv1* دارای بیشترین فعالیت و تعداد کمی در ژنوم انگور بود. بنابراین می‌توان از نشانگرهای مبتنی بر این خانواده جهت مطالعه روابط تکامل بین گونه‌های مختلف در جنس *Vitis* استفاده کرد.

منابع

- Abdollahi Mandoulakani B, Piri Y, Darvishzadeh R, Bernoosi I, Jafari M (2012) Retroelement insertion polymorphism and genetic diversity in *Medicago sativa* populations revealed by IRAP and REMAP markers. Plant Molecular Biology Reporter 30: 286-296
- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K, Albright LM, Coen DM, Varki A (1995) Current protocols in molecular biology. John Wiley and Sons New York.
- Bowers JE, Meredith CP (1996) Genetic Similarities among wine grape cultivars revealed by Restriction Fragment-length polymorphism (AFLP) analysis. Journal of American Society for Horticultural Sciences 121: 620-624.
- Carreno E, Lopez MA, Labra M, Rivera D, Sancha J, Ocete R, Martinez de, Toda YF (2004) Genetic relationship between some Spanish *Vitis vinifera* L. subsp. *Sativa* cultivars and wild grapevine populations (*Vitis vinifera* L subsp. *Silvestris* (Gmelin) Hegi): a preliminary study. Plant Genetic Research Newsletter 137: 42-45.
- Cervera MT, Cabezas JA, Sancha JC, Martinez F, Martinez JM (1998) Application of AFLP to the Characterization of grapevine *vitis vinifera* genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). Theoretical and Applied Genetics 97: 51-59.
- D'Onofrio C, DeLorenzis 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.
- Dolati Baneh H, Grassi F, Mohammadi SA, De Mattia f, Imazio S, Labra M (2007) The use of AFLP and morphological markers to study Iranian grapevine germplasm to avoid genetic erosion. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 82: 745-752.
- Dolati Baneh H, Mohammadi SA, Labra M, Nazemieh A, De Mattia F, Mardi M (2007) Chloroplast microsatellites markers to assess genetic diversity in wild and cultivated grapevines of Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 10: 1855-1859.
- Flavell AJ, Knox MR, Pearce SR, Ellis THN (1998) Retrotransposon based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. Plant Journal 16: 643-650.
- Grando M, Frisinghelli C (1998) Grape microsatellite markers: sizing of DNA alleles and genotype analysis of some grapevine cultivars. Vitis 37: 79-82.

Grassi F, Labra M, Scienza A, Imazio S (2002) Chloroplast SSR markers to assess DNA diversity in wild and cultivated grapevine. Vitis 41: 157-158.

Jaillon O, Aury JM, Noel B, Policriti A, Clepet C, Casagrande A, Choisne N, Aubourg S, Vitulo N, Jubin C, Vezzi A, Legeai F, Hugueney P, Dasilva C, Horner D, Mica E, Jublot D, Poulain J, Bruylants C, Billault A, Segurens B, Gouyvenoux M, Ugarte E, Cattonaro F, Anthouard V, Vico V, Del Fabbro C, Alaux M, Di Gaspero G, Dumas V, Felice N, Paillard S, Juman I, Morollo M, Scalabrin S, Canaguier A, Le Clainche I, Malacrida G, Durand E, Pesole G, Laucou V, Chatelet P, Merdinoglu D, Delledonne M, Pezzotti M, Lecharny A, Scarpelli C, Artiguenave F, Pè ME, Valle G, Morgante M, Caboche M, Adam-Blondon AF, Weissenbach J, Quétier F, Wincker P (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. Nature 449: 463-467.

Jedari Kouhi B, Garoosi GA, Hosseini R (2011) Investigation on genetic variation in seedless grapevine cultivars using RAPD molecular marker. Journal of Cell and Tissue 2: 99-106 (In Farsi).

Kalendar R, Grob T, Regina M, Souniemi A, Schulman AH (1999) IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. Theoretical and Applied Genetic 98: 704-711.

Karami MJ (1995) Identification of grapes of Kordestan province. MSc Dissertation, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran (In Farsi).

Kocsis M, Romi LJ, Putnoki, Kozma P, Borhidi A (2005) Genetic diversity among twelve grape cultivars indigenous to the Carpathian Basin revealed by RAPD markers. Vitis 44: 87-91.

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.

Nasri S, Abdollahi Mandoulakani B, Darvishzadeh R, Bernousi I (2013) Retrotransposon insertion polymorphism in Iranian bread wheat cultivars and breeding lines revealed by IRAP and REMAP markers. Biochemical Genetics 51: 927-943

Peakall R, Smouse P (2006) GenAIEx 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes 6: 288-295.

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.

- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-954.
- Ramallo, E, Kalendar R, Schulman AH, Martinez JA (2008) Reme1, a Copia retrotransposon in melon is transcriptionally induced by UV light. *Plant Molecular Biology* 66: 137-150.
- Regner F, Hack R, Gangl H, Leitner G, Mandl K, Tiefenbunner W (2004) Genetic variability and incidence of systemic diseases in wild vines (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) along the Danub. *Votes* 43: 123-130.
- Rohlf FJ (2000) NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and multivariate analysis System, version 2.1. Exeter Software, New York.
- Smykal P, Bacova-Kerteszova N, Kalendar R, Corander J, Schulman AH, Pavlek M (2011) Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) germplasm assessed by retrotransposon-based markers. *Theoretical and Applied Genetics* 122:1385-1397
- Tafzili A, Hekmati J, Firouzeh P (1994) Grape. University of Shiraz Publication, Iran (In Farsi).

Velasco R, Zharkikh A, Troggio M, Cartwright DA, Cestaro A, Pruss D, Pindo M, FitzGerald LM, Vezzulli S, Reid J, Malacarne G, Iliev D, Coppola G, Wardell B, Micheletti D, Macalma T, Facci M, Mitchell JT, Perazzolli M, Eldredge G, Gatto P, Oyterski R, Moretto M, Gutin N, Stefanini M, Chen Y, Segala C, Davenport C, Demattè L, Mraz A, Battilana J, Stormo K, Costa F, Tao Q, Si-Ammour A, Harkins T, Lackey A, Perbost C, Taillon B, Stella A, Solovyev V, Fawcett JA, Sterck L, Vandepoele K, Grando SM, Toppo S, Moser C, Lanchbury J, Bogden R, Skolnick M, Sgaramella V, Bhatnagar SK, Fontana P, Gutin A, Van de Peer Y, Salamini F, Viola R (2007) A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety. *PLoS ONE* 2: e1326.

Vukich M, Schulman AH, Giordani T, Natali L, Kalendar R, Cavallini A (2009) Genetic variability in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and in the *Helianthus* genus as assessed by retrotransposon-based molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* 119: 1027-1038.