بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده کشاورزی

گروه بیوتکنولوژی

بررسی تنوع و روابط ژنتیکی ارقام مختلف انگور منطقه شاهرود با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی REMAP

دانشجو:

محمدقاسم کشاورزخوب

اساتید راهنما :

دکتر شاهرخ قرنجیک - دکتر اسد معصومی اصل

اساتید مشاور:

دکتر مهدیه پارسائیان - دکتر بابک عبدالهی مندولکانی

پایان‌نامه‌ی ارشد جهت اخذ درجه‌ی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی

آبان ماه ۱۳۹۲

تقدیم به

همه عزیزانم،

به‌خصوص

مادرمهربانم

تقدیر و تشکر

می ستایم خدایی را که به هر دانه لذت بالیدن، به من لذت آموختن این بالندگی را داد.

حال که به لطف و یاری خداوند به پایان این ره رسیده‌ام، لازم می‌دانم از اساتید راهنمای پرتلاش و گرانقدرم آقایان دکتر شاهرخ قرنجیک و دکتر اسد معصومی اصل به پاس راهنمایی‌های ارزشمند و کمک‌های بی‌دریغ‌شان تشکر و قدردانی نمایم. از زحمات جناب آقای دکتر بابک عبدالهی مندولکانی و دکتر مهدیه پارسائیان که مشاوره این پایان نامه را عهده دار بودند، سپاس‌گزارم.

از داوران گرامی، آقایان دکتر ناصر فرخی و دکتر حمیدرضا صمدلویی به جهت ارائه نظرات و پیشنهادات به جا و با ارزش و همدلی‌هایشان در تمام مراحل اجرای پایان نامه سپاس‌گزارم، از کارشناسان آزمایشگاهای دانشگاه یاسوج سرکار خانم حاجی زاده، خانم کرمی، خانم فرهاد پور و خانم صیادیان، از انتظامات دانشگاه یاسوج صمیمانه سپاس‌گزاری می‌کنم.

از اساتید بزرگوارم در دانشگاه یاسوج آقایان دکتر اشکبوس دهداری، دکتر محمد عبدالهی، دکتر رضا امیری فهلیانی، دکتر پیام فیاض، دکتر محقق دولت آبادی و سرکار خانم دکتر یوسفی نژاد به خاطر زحمات بی‌دریغ و همکاری‌های فراوانشان، بی نهایت سپاس‌گزارم.

در پایان از تمامی دوستان خوبم به‌خصوص آقایان جابر خورندی، علی مظهری نیا، نواب نیک بین، امیرعلی دمورپور، میثم روانفرد، فرهاد روانفرد، ستار علی پور، هدایت الله بیاد، پرهام رجبی و خانم‌ها سرکار خانم برزن، خانم هدایتخواه، خانم مرتضوی، خانم تاجی، خانم رحیمی، خانم قاسمی، خانم باقری و همه‌ی عزیزانی که در به اتمام رساندن این پروژه به بنده لطف نمودند کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایم.

محمدقاسم کشاورزخوب
۱۳۹۲

تعهدنامه

اینجانب **محمدقاسم کشاورزخوب** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان‌نامه **بررسی تنوع و روابط ژنتیکی ارقام مختلف انگور منطقه شاهرود با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی REMAP** تحت راهنمائی آقایان دکتر **شاهرخ قرنجیک و دکتر اسد معصومی اصل** متعهد می‌شوم.

- تحقیقات در این پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در بدست آوردن نتایج اصلی پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از پایان‌نامه رعایت می‌گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت‌های آن‌ها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ: ۱۳۹۲/۰۸/۱۳

امضای دانشجو:

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم‌افزارها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می‌باشد.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

چکیده

شناخت تنوع ژنتیکی گیاه انگور به تحقیقات به‌نژادی این گیاه کمک می‌نماید. هدف از این مطاالعه بررسی تنوع ژنتیکی ۲۵ رقم مختلف انگور با استفاده از داده‌های مورفولوژیکی، نشانگرهای رتروترانسپوزونی REMAP و IRAP و همچنین نشانگر ISSR بود. به منظور انجام این تحقیق، نمونه-برداری و ارزیابی صفات مورفولوژیکی در تابستان سال ۱۳۹۱ از مرکز تحقیقات شهرستان شاهرود و باغات شهر سی‌سخت انجام شد. در این مطالعه، ۱۴ صفت مورفولوژیک مربوط به شکل برگ، خوشه و حبه مورد ارزیابی قرار گرفتند. در بخش مولکولی از ۲۱ آغازگر رتروترانسپوزونی و ISSR استفاده شد. براساس میزان تشکیل باند، چندشکلی و نیز تکرار پذیری باندها، از بین ۲۱ آغازگر مورد استفاده، تعداد ۱۵ آغازگر انتخاب شدند. ۱۵ آغازگر مذکور مجموعا ۱۵۶ باند تولید کردند که ۱۴۴ باند چندشکلی قابل قبولی نشان دادند. تعداد قطعات تکثیر شده با آغازگرهای مختلف متفاوت بود، بیشترین تعداد قطعه تکثیر شده ۱۶ عدد و مربوط به آغازگرهای ۸۲۵ و ۸۴۰ و کمترین آن ۶ عدد و مربوط به ترکیب آغازگری Vine1Fa+ Ms3 (REMAP) و آغازگر 857 (ISSR) بود. تعداد متوسط باندهای پلی‌مورف برای هر آغازگر ۹/۶ باند بود. بیشترین مقدار ضریب تنوع شانون و هتروزیگوسیتی مشاهده شده مربوط به آغازگر *Gret1Fa* از سری آغازگرهای IRAP بود که مبین این است که احتمالا نشانگر IRAP نسبت به دو نشانگر دیگر تنوع بین ارقام مورد مطالعه را بهتر نشان می‌دهد. تجزیه کلاستر نیز با استفاده از الگوریتم UPGMA و ماتریس تشابه جاکارد انجام شد. نتایج این پژوهش، مبین وجود تنوع مولکولی و مورفولوژیکی در بین ارقام انگور بوده و بیانگر کارآمدی نشانگرهای رتروترانسپوزونی REMAP و IRAP و همچنین نشانگر ISSR در تعیین تنوع ژنتیکی ارقام انگور مورد مطالعه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: انگور، REMAP، IRAP، تنوع ژنتیکی و صفات مورفولوژیک.

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه:

۱- بررسی روابط ژنتیکی ارقام مختلف انگور با استفاده از نشانگر رتروترانسپوزونی REMAP.

همایش انگور و کشمش- دانشگاه ملایر- مهرماه ۱۳۹۲.

محمدقاسم کشاورزخوب*، شاهرخ قرنجیک، اسد معصومی اصل، بابک عبدالهی مندولکانی و مهدیه پارسائیان

۲- تنوع ژنتیکی رقم ها مختلف انگور با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و ISSR.

همایش انگور و کشمش- دانشگاه ملایر- مهرماه ۱۳۹۲.

محمدقاسم کشاورزخوب*، شاهرخ قرنجیک، اسد معصومی اصل، بابک عبدالهی مندولکانی و مهدیه پارسائیان

فهرست مطالب

۱-۱- انگور ۱

۱-۱-۱- گیاه‌شناسی انگور ۲

۱-۱-۲- تاریخچه اصلاح انگور ۵

۱-۲- تنوع ژنتیکی و بررسی آن ۶

۱-۳- نشانگرها و انواع آن ۶

۱-۳-۱-انواع نشانگرهای ژنتیکی ۷

۱-۳-۱-۱- نشانگرهای مورفولوژیک ۸

۱-۳-۱-۲- نشانگرهای پروتئینی ۸

۱-۳-۱-۳-نشانگرهای مولکولی در سطح DNA و RNA ۱۰

۱-۳- نشانگرهای DNA مبتنی بر واکنش زنجیرهای پلیمراز ۱۲

۱-۳-۲- رتروترانسپوزون‌های LTR ۱۳

۱-۳-۲-۱-گروه *Ty1-Copia* از رتروترانسپوزون‌های LTRدار ۱۵

۱-۳-۲-۲- گروه *Ty3-gypsy* از رتروترانسپوزون‌های LTRدار ۱۷

۱-۳-۳- چگونگی تکثیر رتروترانسپوزون‌ها ۱۷

۱-۳-۴- استفاده از رتروترانسپوزون‌ها به عنوان نشانگرهای مولکولی ۲۰

۱-۳-۴-۱- نشانگر IRAP ۲۱

۱-۳-۴-۲- نشانگر REMAP ۲۲

۱-۳-۵- منبع ژنتیکی ایدهآل جهت نشانگرهای رتروترانسپوزونی ۲۴

۱-۳-۶- توسعه و کاربرد نشانگرهای رتروترانسپوزون ۲۵

۱-۴- چندشکلی در تعداد تکرارهای پشت سر هم (ISSR) ۲۸

۱-۴-۱-نشانگر ISSR ۲۸

۱-۵- ضرورت تحقیق ۳۰

۱-۶- هدف تحقیق ۳۲

۲-۱- مروری بر پژوهش‌های انجام شده در گیاه انگور با استفاده از نشانگرهای مختلف.....۳۴
۳-۱-مواد و روش‌های بخش مورفولوژیک.....۴۳
۳-۱-۱- نمونه‌برداری و صفات مورد بررسی.....۴۳
۳-۱-۲- تجزیه و تحلیل آماری.....۴۳
۳-۲- مواد و روش‌های بخش مولکولی.....۴۴
۳-۲-۱- تجهیزات آزمایشگاهی.....۴۴
۳-۲-۲- استخراج DNA از بافت برگ به روش CTAB.....۴۵
۳-۲-۲-۱-مراحل استخراج DNA.....۴۵
۳-۲-۳- محلول‌های مورد نیاز.....۴۷
۳-۲-۳-۱- محلول تریس اسید کلریدریک ۱ مولار (Tris-HCl 1M pH = 8):.....۴۷
۳-۲-۳-۲- محلول اتیلن دیآمین تترا استیک اسید ۰/۵ مولار (EDTA, 0.5M) pH= 8):.....۴۷
۳-۲-۳-۳- محلول کلرید سدیم ۵ مولار (NaCl 5M).....۴۷
۳-۲-۳-۴- بافر Tris-HCl- EDTA (TE):.....۴۷
۳-۲-۳-۵- بافر TBE:.....۴۷
۳-۲-۴- بررسی کمیت و کیفیت DNA.....۴۸
۳-۲-۴-۱- بررسی کمیت DNA به روش اسپکتروفتومتری.....۴۸
۳-۲-۴-۲- الکتروفورز ژل آگارز با دستگاه الکتروفورز افقی.....۴۸
۳-۲-۵-۱- الگوی دمایی.....۵۰
۳-۲-۵-۲- بررسی محصول PCR با الکتروفورز ژل آگارز.....۵۱
۳-۲-۶- تجزیه داده‌ها.....۵۱
۳-۲-۷-تجزیه‌های چند متغیره آماری.....۵۲
۳-۲-۷-۱-ضریب تشابه جاکارد.....۵۲
۳-۲-۷-۲- تجزیه خوشه‌ای.....۵۲
۳-۲-۷-۳- UPGMA.....۵۳
۳-۲-۷-۴- تجزیه به مولفه‌های اصلی.....۵۳
۳-۲-۷-۵- شاخص شانون.....۵۳
۳-۲-۷-۶- هتروزیگوستی.....۵۴
۴-۱- تجزیه خوشه ای ارقام مختلف انگور براساس داده‌های مورفولوژیکی.....۵۶

۴-۲- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس داده‌های مورفولوژیک ۵۸
۴-۳- تجزیه داده‌های مولکولی ۶۱
۴ -۳-۱-نتایج آنالیز خوشه‌ای ۶۲
۴-۳-۱-۱- نتایج آنالیز خوشه‌ای بر اساس نشانگر IRAP ۶۳
۴-۳-۱-۲- نتایج آنالیز خوشه‌ای بر اساس نشانگر REMAP ۶۸
۴-۳-۱-۳-نتایج آنالیز خوشه‌ای بر اساس نشانگر ISSR ۷۲
۴-۴- نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۷۷
۴-۵- نتیجه گیری ۸۰
۴-۶- پیشنهادات ۸۲
منابع ۸۸

فهرست جدول‌ها

جدول - ۱-۱: گونه‌های آمریکایی معرفی شده توسط گالت (۱۹۹۸) و ویژگی‌های آنها..... ۴
جدول ۳- ۱: مواد مورد استفاده در تهیه بافر استخراج..... ۴۶
جدول ۳- ۲: توالی آغازگرهای مورد استفاده..... ۵۰
جدول ۴- ۱: مقادیر مؤلفه‌های اصلی..... ۵۹
جدول ۴- ۲: ضرایب عاملی صفات مختلف در پنج مؤلفه اصلی برآورد شده..... ۶۰
جدول ۴- ۳: لیست آغازگرهایی چندشکل و تکرار پذیر به همراه دمای بهینه اتصال..... ۶۲
جدول ۴- ۵: داده‌های حاصل از آنالیز نشانگرهای IRAP..... ۶۵
جدول ۴- ۶: داده‌های حاصل از آنالیز نشانگرهای REMAP..... ۶۹
جدول ۴- ۴: داده‌های حاصل از آنالیز نشانگرهای ISSR..... ۷۴
جدول ۴- ۷: مقادیر مؤلفه‌های اصلی برای بخش مولکولی..... ۷۷

فهرست شکل‌ها

شکل-۱- ۱: شمای کلی از یک رتروترانسپوزون..... ۱۶

شکل-۱- ۲: مراحل مختلف همانندسازی در رتروترانسپوزون‌ها..... ۱۸

شکل-۱- ۳: روش‌های مختلف نشانگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزون‌ها..... ۲۱

شکل-۱- ۴: شمایی از روش IRAP..... ۲۲

شکل-۱- ۵: شمایی از نشانگر REMAP..... ۲۳

شکل-۱- ۶: شمایی از روش ISSR..... ۲۹

شکل ۳- ۱: DNAهای استخراج شده از ۲۵ رقم انگور مورد مطالعه..... ۴۶

شکل-۴- ۱: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای رقم‌های مختلف انگور به روش ward..... ۵۷

شکل-۴- ۴: الگوی باندی حاصل از آغازگر Tvv1Fa از سری آغازگرهای IRAP..... ۶۷

شکل-۴- ۵: دندروگرام حاصل از داده‌های IRAP ۶۷

شکل-۴- ۶: الگوی باند ی حاصل از آغازگر Gret1Fa+Ms8..... ۷۱

شکل-۴- ۷: دندروگرام حاصل از داده‌های REMAP..... ۷۱

شکل-۴- ۲: الگوی باندی حاصل از آغازگر ۸۲۵ از سری آغازگرهای ISSR..... ۷۵

شکل-۴- ۳: دندروگرام حاصل از داده‌های ISSR..... ۷۶

شکل-۴- ۸: پلات تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای نشانگر REMAP..... ۷۸

شکل-۴- ۹: نمودار سه بعدی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی داده‌های مولکولی..... ۷۹

فهرست ضمائم

جدول ضمیمه ۱: ارقام انگور مورد مطالعه ۸۴

جدول ضمیمه ۲: لیست صفات مورد بررسی ۸۵

فصل اول

مقدمه و هدف

۱-۱- انگور

انگور (*V. vinifera* L.) یکی از گیاهان ریزمیوه مهم است که طبق روایات، حضرت نوح (ع) اولین کسی بود که به پرورش آن اقدام نمود. در منطقه زندگی انسان‌های اولیه، یعنی ناحیه‌ای بین دریای خزر تا دریای سیاه، هنوز هم انگورهای وحشی (*V. sylvestris*) یافت می‌شود. به همین دلیل گیاه‌شناسان، این منطقه را موطن اصلی انگور دنیای قدیم یعنی *V. vinifera* می‌دانند. این گیاه سپس از طریق خاور نزدیک به مدیترانه و اروپا منتقل شد و در اواخر قرن ۱۸ میلادی، شراب حاصل از آن به کالیفرنیا وارد شد .در حال حاضر منشأ انگور مورد بحث کارشناسان می‌باشد، به ویژه اینکه هیچ توافقی در مورد مرکز اولیه اهلی شدن انگور و یا مراکز ثانویه آن وجود ندارد. بر اساس برخی مطالعات، ناحیه خاور نزدیک به عنوان مرکز اولیه انگور معرفی شده است (زوهاری و هوف[1]، ۱۹۹۳). بر اساس مطالعات دیگر، پیشنهاد شده است که اهلی شدن انگور ابتدا در نیمه دوم هزاره چهارم قبل از میلاد مسیح در دو ناحیه هم جوار، مزوپوتامیا[2] (شامل جنوب آناتولی، سوریه، شمال لبنان، کردستان عراق و غرب ایران) و جنوب دریای خزر اتفاق افتاده است (لابرا[3] و همکاران، ۲۰۰۲).

اطلاعات باستان شناسی شامل پیدا شدن بذور انگورهای زراعی مربوط به هزاره چهارم قبل از میلاد در خاورمیانه و همچنین شواهدی مربوط به تولید شراب در ایران در هزاره ششم قبل از میلاد نیز این نظر را تأیید می‌کنند (مک گاورن[4]، ۲۰۰۳). کلیه ارقام قدیمی انگور (*V. vinifera* spp. *sativa*) از اجداد وحشی (*V. vinifera* spp. *sylvestris*) خود اهلی شدند (لوادوکس[5]، ۱۹۵۶). انگورهای وحشی گیاهان دوجنسی و

1- Zohary and Hopf
2- Mezopotamia
3- Labra
4- McGovern
5- Levadoux

دو پایه می‌باشند، و محیط‌های مرطوب را ترجیح می‌دهند، در حالی که انگورهای زراعی یا اهلی شده هرمافرودیت هستند و اغلب به محیط‌های نسبتا خشک عادت دارند (گراسی[1] و همکاران، ۲۰۰۳).

گیاه‌شناسان، گونه vinifera را به دو زیرگونه sylvestris و caucasia تقسیم می‌کنند که اولی در جنوب و مرکز اروپا، جنوب غربی آفریقا، غرب ترکیه و فلسطین و دومی در جنوب روسیه، ارمنستان، قفقاز، آناتولی، ایران، ترکمنستان و کشمیر دیده می‌شود (گالت[2]، ۱۹۹۸).

۱-۱-۱- گیاه‌شناسی انگور

انگور گیاهی از خانواده Vitacea و از جنس Vitis است. شواهد نشان می‌دهد که انگورهای وحشی قبل از انسان وجود داشتند. تعداد گونه‌های انگور زیاد هستند که تعدادی از این گونه‌ها شامل: *V. aestivalis*، *V. rotundifolia*، *V. labrusca* و *V. vinifera* می‌باشند.

گونه‌ی *V. rotundifolia* خاص جنوب شرق ایالات متحده است. انگورهای معروف این گونه magnolia و scuppernong هستند. انگورهای این گونه پوست ضخیم و میزان عملکرد پایینی دارند.

گونه‌ی *V. aestivalis* یک گونه‌ی آمریکایی است که عموما به انگور نورتون و لنیور معروف است. میزان قند در آنها بالا ولی مقدار اسید پایین است. از انگورهای این گونه برای تولید شراب استفاده می‌شود. آنها دارای پوست ضخیم و دانه‌های زیادی هستند.

گونه‌ی *V. labrusca* که به انگور روباه معروف هستند و میزان قند و pH پایینی دارند و برای خوردن مناسب هستند. این گونه‌های امریکایی معمولا استفادهی خوراکی دارند و همچنین برای تولید شراب شیرین نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. این گونه شامل واریته‌های concord و niagara می‌باشد.

1- Grassi

2- Galet

گونه‌ی *V. vinifera* بیشتر در اروپا و قسمت‌هایی از آسیا و همچنین کالیفرنیا پیدا می‌شود. این گونه شامل واریته‌های sangiovese، sauvignon blanc، syrah، riesling، chasselas، flame seedless و muscat blanc می‌باشد. این واریته‌ها مقدار قند بالایی دارند و اندازه حبه در آنها متفاوت است. این نوع انگورها برای درست کردن کشمش و حمل و نقل مناسب هستند.

تمامی واریته‌های vitis خزان کننده و چوبی با ارتفاع ۱۲ تا ۲۰ متر هستند، شاخه‌های مسن به صورت پوسته پوسته ولی شاخه‌های جوان‌تر صاف هستند. برگ‌ها به صورت متناوب و بسته به گونه‌های مختلف شکل‌ها و اندازه‌های متفاوتی دارند. برخی دارای پهنک گرد و بدون لوب هستند این در حالی است که برخی قلبی شکل و لوب دارند. اندازه پهنک در گونه‌های مختلف متفاوت، لبه‌ی برگ‌ها زبر و دندانه‌دار و گل‌های کوچک و زرد متمایل به سبز دارند. گل‌ها معمولا در خوشه‌ها رشد می‌کنند و دارای ۵ کاسبرگ، کلبرگ و پرچم هستند و تخمدان دارای دو تخمک است. گل‌های کامل در انگور پرچم‌های بلند و مادگی کوتاهی دارند. بیشتر انگورها به خاطر داشتن گل کامل دارای خود گرده افشانی هستند. گرده افشانی توسط باد و حشرات انجام می‌شود. حبه‌ها در این گونه کوچک، گرد، آب‌دار و چهار تا دانه دارند و دارای رنگ‌های متفاوت قرمز، آبی، ارغوانی و سیاه هستند. پوست این انگورها معمولا نرم و صاف و به خوبی توسط یک لایه-ی مومی پوشیده شده است.

گونه *V.amurinsis* از شناخته شده‌ترین گونه‌های آسیایی می‌باشد که در شوروی سابق به عنوان منبع مقاومت به سرما و یخبندان با *V. vinifera* تلاقی داده شده است. گروه اروپا و خاورمیانه‌ای آن تنها شامل گونه‌ی *V. vinifera* می‌باشد، اما در گروه آسیایی ۱۰ تا ۱۵ گونه‌ی محلی وجود دارد (لوادکس و همکاران، ۱۹۶۲).

جدول - ۱-۱: گونه‌های آمریکایی معرفی شده توسط گالت (۱۹۹۸) و ویژگی‌های آنها

ردیف	نام گونه	ویژگی
۱	*V. rupestris*	مقاوم به شته فیلوکسرا[1]، حساس به آهک و ریشه‌دهی سریع قلمه‌های
۲	*V. cordifolia*	بسیار مقاوم به سرما، مقاوم به فیلوکسرا، ولی حساس به آهک
۳	*V. riparia*	بسیار مقاوم به فیلوکسرا، مقاوم به بیماری‌های قارچی و سرمای زمستانه، ریشه‌دهی راحت قلمه‌ها و اما تحمل پایین نسبت به خاک‌های آهکی
۴	*V. monticola*	بسیار مقاوم به خاک‌های آهکی ولی ریشه‌دهی سخت قلمه‌های آن
۵	*V. aestivalis*	مقاوم به بیماری‌های قارچی، حساس به فیلوکسرا و دارای خواص مطلوب میوه
۶	*V. lineceumii*	مقاومت نسبی به فیلوکسرا و مقاوم به سفیدک
۷	*V. argentifolia*	خواصی شبیه به گونه *aestivalis*
۸	*V. candicans*	مقاوم به فیلوکسرا، مقاوم به گرما و خشکی، حساس به آهک و ریشه‌دهی قلمه‌ها کم
۹	*V. cinerea*	مقاوم به فیلوکسرا و بیماری‌های قارچی، حساس به آهک و ریشه‌دهی قلمه‌های ضعیف
۱۰	*V. berlandirei*	بسیار مقاوم به فیلوکسرا، بسیار مقاوم به خاک‌های آهکی و ریشه‌دهی قلمه‌های ضعیف
۱۱	*V. labrusca*	مقاوم به سرما و دارای حبه‌های درشت و گوشتالو با طعم و مزه خوب

1- *Phylloxera vitifolia*

۱-۱-۲- تاریخچه اصلاح انگور

اولین تلاقی بین ارقام ریسلینگ[۱] و سیهانر[۲] انجام گردید و فرانسه و انگلستان در انتخاب ارقام مناسب انگور برای تازه خوری پیشتاز بودند (مولر[۳] و تورگائو[۴]، ۱۸۹۱).

در آمریکا نیز از اوایل قرن هفدهم تلاش‌هایی صورت گرفت اما به علت عدم مقاومت ارقام به بیماری-ها، آفات و سرمای زمستان، موفقیت چندانی حاصل نشد. در خلال سال‌های ۱۸۰۰ تا ۱۸۵۰ ارقامی چون کاتاوبا[۵]، کونکورد[۶] و ایزابلا[۷] معرفی شدند. بسیاری از آنها یا به وسیله به‌نژادگران آماتور به وجود آمدند و یا به صورت تصادفی از ارقام وحشی گزینش شدند.

از اولین به‌نژادگران انگور در آمریکا راجرز[۸] (۱۸۹۹-۱۸۲۶) می‌باشد. وی گونه *labrusca* را که دارای حبه‌های درشت و قرمز می‌باشد را با دو رقم *vinifera* آمیزش داد که نتاج آن به دورگ‌های راجرز معروف می‌باشند. بعد از وی مانسون[۹] (۱۹۱۳) کارهای ارزشمندی در مورد خواص گیاه‌شناسی و دورگ‌گیری انگور انجام داد. در اروپا، دورگ‌گیری بین گونه‌ها از موقعی که خسارت شته فیلوکسرا (*Phylloxera vitifolia*) در فرانسه مشاهده شد، آغاز گردید. فیلوکسرا قبل از دهه ۱۸۶۰ و احتمالا توسط قلمه‌های مقاوم به سفیدک سطحی مو (*Uncinula necator*) به فرانسه وارد شده است. همچنین در اروپا به منظور جمع کردن صفات مطلوب گونه‌های مختلف، دورگ‌گیری‌های زیادی بین ارقام مختلف آمریکایی و *vinifera* انجام گردید. دورگ‌های فرانسوی ترکیبی از مقاومت گونه‌های آمریکایی و کیفیت مطلوب میوه گونه *vinifera* می‌باشند (قنادها و همکاران، ۱۳۸۲).

1- Reisling
2- Syhanr
3- Muller
4- Thurgau
5- Catawba
6- Concord
7- Isabella
8- Rogres
9- Munson

پس از این تلاقی‌ها و همچنین ایجاد جهش‌های طبیعی در ژنوم ارقام مختلف انگور تنوع ژنتیکی به وجود آمده آمده است.

۱-۲- تنوع ژنتیکی و بررسی آن

تنوع ژنتیکی، مرحله‌ای از تنوع زیستی است که به همه ویژگی‌های ژنتیکی در ساختار ژنتیکی یک گونه اشاره دارد. تنوع ژنتیکی روشی برای آن است که جمعیت یک گونه به دگرگونی‌های محیط طبیعی وفق پیدا کند. هرچه میزان این تنوع بیشتر باشد، احتمال بیشتری وجود دارد که بعضی از اعضای جمعیت یک گونه تعداد از الل‌ها را که باعث دوام در محیط می‌شود را به دست بیاورند. روش‌های گوناگونی برای سنجش میزان تنوع ژنتیکی وجود دارند.

ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی معمولاً بر اساس نشانگرهای فنوتیپی، بیوشیمیایی (پروتئین و آیزوزایم ها)، سیتوژنتیکی (انواع نواربندی کروموزومی و سیتوژنتیک مولکولی) و مولکولی (نشانگرهای DNA[1] مبتنی بر PCR[2] و غیر مبتنی بر PCR) انجام می‌گیرد. هر یک از این دسته نشانگرها دارای نقاط قوت و ضعفی هستند که می‌بایست در موقع مناسب از آنها استفاده شود. در خیلی از موارد میزان تنوع ارزیابی شده با استفاده از نشانگرهای یاد شده نتایج یکسانی داده است که این امر موجب صرفه‌جویی و افزایش دقت و صحت کار شده است (فرشادفر، ۱۳۷۴).

۱-۳- نشانگرها و انواع آن

هر صفتی که بین افراد متفاوت باشد، ناشی از تفاوت موجود بین ردیف DNA کروموزوم‌های آنهاست که به نتاج نیز منتقل می‌شود. حتی صفاتی که تحت تأثیر شرایط محیط نیز به صورت متفاوت بروز می‌کنند، بازتاب تفاوت‌های موجود در ردیف‌های DNA هستند. این تفاوت‌ها می‌توانند به عنوان نشانه یا نشانگر

1- Deoxyribonucleic Acid (DNA)
2- Polymerase chain reaction