**Iranian Journal of Horticultural Science**
Vol 52, No 1, Spring 2021 (69-83)
DOI:10.22059/ijhs.2019.279010.1642

**علوم باغبانی ایران**
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۱، بهار ۱۴۰۰ (ص ۸۳-۶۹)

# شناسایی نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی مؤثر در تمایز و شناسایی رقم‌های تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش درخت به (*Cydonia oblonga* Mill.)

**حمید عبداللهی[1*]، مهدی علیپور[2]، مهسا خرمدل آزاد[3] و امیرعباس تقی‌زاده[4]**

۱. دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران
۳. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
٤. دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی(ره)، قزوین، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۱۵)

## چکیده

طی برنامه‌های اصلاحی انجام شده روی درخت به، دو رقم معرفی‌شده ویدوجا و بهتا، و سه ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۲، اصفهان-۳ و اصفهان-۵ گزینش شده است. در این تحقیق به تعیین نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی اختصاصی درتمایزآنها پرداخته شد. ارزیابی مورفولوژیک براساس ۳۸ صفت توصیف‌گر آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری (DUS) و ارزیابی مولکولی براساس نشانگر SSR، با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر سیب و گلابی انجام شد. تجزیه خوشه‌ای روی صفات مورفولوژیک و الگوی باندی حاصل از نشانگر SSR، بیانگر تمایز کلیه رقم‌ها و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از یکدیگر بود. در میان صفات توصیف گر، صفات قدرت و عادت رشد، رنگ شاخه و نحوه اتصال جوانه‌ها، اندازه و مواج‌بودن حاشیه برگ، رنگ شکوفه و خصوصیات میوه به عنوان کلیدی‌ترین صفات در تمایز رقم‌ها بود. رقم اصفهان براساس عادت رشد درخت و شاخه و فرم میوه، رقم ویدوجا براساس فرم درخت، مواج بودن حاشیه برگ و رنگ شکوفه و زمان‌گلدهی و اصفهان-۲، اصفهان-۳، بهتا و اصفهان-۵، به ترتیب براساس صفات فرم میوه، فاصله جوانه از شاخه، گردن میوه و رنگ سبزقهوه‌ای شاخه متمایز بودند. در نشانگرهای مولکولی تعداد ۱۰ آلل چند شکلو متوسط آلل ۳/۳ به‌ازای هر مکان ژنی مشاهده شد. بیش‌ترین تعداد باند و شاخص PIC با استفاده از آغازگرهای CH05d04، CH04a12 و CH02b10 به دست آمد. آغازگرهای CH04a12، CH05d04 و Ch02b10 بیش‌ترین قدرت تمایز رقم‌ها و ژنوتیپ‌های امیدبخش را را داشتند، به صورتی که جمعاً آغازگرهای NH015a، CH04a12 و NB103a همراه با یکی از جفت آغازگرهای CH01d08، CH05d04 و یا NH011b قادر به تمایز همگی رقم‌های مورد بررسی بودند.

**واژه‌های کلیدی:** توصیف‌گر UPOV، صفات مورفولوژیک، نشانگر توالی‌های ساده تکراری.

# Identification of effective morphological and molecular markers for discrimination and identification of commercial cultivars and promising genotypes of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) tree

**Hamid Abdollahi[1*], Mahdi Alipour[2], Mahsa Khoramdel Azad[3] and Amir Abbas Taghizadeh[4]**
1. Associate Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
2. Former M. Sc. Student, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Torbat Heydarieh University, Torbat Heydarieh, Iran
3. Former M. Sc. Student, Faculty of Agricultural Science and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4. Ph. D. Candidate, Faculty of Agricultureand Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran
(Received: May 19, 2019- Accepted: Oct. 07, 2019)

## ABSTRACT

Recent quince breeding programs has resulted in release of new cultivar Viduja and Behta and presentation of promising Esfahan-2, Esfahan-3 and Esfahan 5 genotypes. This research was conducted to discriminate these cultivars by morphological and molecular markers. Morphological markers were based on 38 characteristics from discrimination, uniformity and stability (DUS) tests, while for molecular markers, 15 primer pairs of apple and pear SSR markers were used. Cluster analysis on morphologic and banding pattern of SSR marker demonstrated distinctness of all evaluated cultivars and promising genotypes. Among morphological markers, tree vigor and growth habit, shoot color and position of bud in relation to the shoot, leaf size and undulation of blades, bloom color and fruit traits were key characteristics. Cultivar Esfahan, based on tree growth habit and fruit shape, cv. Viduja based on tree form and leaf blade undulation, bloom color and flowering time have been discriminated, while in Esfahan-2, Esfahan-3, Behta and Esfahan-5, the fruit shape, position of but in relation to the shoot, fruit neck and finally green-brown of shoot color, respectively were the most discriminative characteristics. In molecular markers, 10 polymorph alleles with mean 3.3 alleles per locus were observed. The highest allele numbers and PIC indices were observed for CH05d04, CH04a12 and CH02b10 primer pairs. Three primer pairs belong to CH04a12, CH05d04 and Ch02b10, SSR loci were more discriminative and three primer pairs, including NH015a, CH04a12 and NB103a with one of the CH01d08, CH05d04 or NH011b were adequately discriminative for all evaluated quinces.

**Keywords:** Morphological characteristics, simple sequence repeats markers, UPOV descriptor.

* Corresponding author E-mail:h.abdollahi@areeo.ac.ir

## مقدمه

با وجود تنوع ژنتیکی گسترده درخت به در ایران و مناطق مجاور دریای خزر (Abdollahi, 2019; Bell and Leitao, 2011)، به‌دلیل سطح زیرکشت محدود این درخت در مقایسه با درختان سیب و گلابی، توجه کم‌تری به تولید و معرفی رقم‌های جدید آن با استفاده از روش‌های مختلف اصلاحی شده است. به این دلیل، بیش‌تر رقم‌های مورداستفاده درخت به، نتیجه گزینش‌های انجام گرفته طی دهه‌ها و یا حتی قرن‌ها کشت و پرورش این محصول در کشورهای مجاور دریای خزر و همچنین آسیای صغیر بوده است. طبق آمار سازمان خواروبار جهانی فائو، در سال ۲۰۱۱ کشورهای چین، ترکیه، ازبکستان، ایران و مراکش بیش‌ترین سطح زیرکشت درخت به را به خود اختصاص داده‌اند (FAO, 2011). براساس این آمار، سطح زیرکشت باغ‌های درخت به، در سه کشور اول به ترتیب، ۲۰، ۹/۸ و ۷ هزار هکتار بوده و در ایران تا این سال ۵/۲ هزار هکتار باغ به گزارش شده است.

براساس روند استفاده از رقم‌های بومی و قدیمی، از دیرباز رقم‌های بومی و محلی متعددی نظیر به ترش آذربایجان در شمال‌غرب، به نیشابور در شمال‌شرق، به اصفهان، به شمس و به ترش اصفهان در مرکز کشور، مورد گزینش و تکثیر قرار گرفته (Manee, 1994) و به تدریج طی یک یا دو دهه اخیر به دلیل برتری رقم اصفهان و شناخت تولیدکنندگان از مزایای نسبی آن، رقم فوق، رقم غالب باغ‌های این محصول در کشور شده است. از دیگر تولیدکنندگان عمده میوه به، کشور ترکیه است و در این کشور، رقم‌های عمده و تجاری متعددی شامل رقم لمون (Lemon)، اکمک (Ekmak) و اشمه (Esme) مورد گزینش قرار گرفته‌اند (Saygili *et al*., 2006). همچنین برخی رقم‌های درخت به منشأ گرفته از کشور ترکیه، نظیر رقم اسمیرنا (Smyrna)، توسعه جهانی داشته و از رقم‌های مهم درخت به در دیگر کشورها، نظیر آرژانتین محسوب می‌شود (Saygili *et al*., 2006).

رقم به اصفهان دارای محاسنی از جمله کیفیت میوه بوده (Alipour *et al*., 2014)، لیکن دارای معایبی از جمله حساسیت به آتشک (Fire blight) (Ahmadi *et al*., 2013)، حساسیت به کلروز برگی ناشی از کمبود آهن (Manee, 1994; Abdollahi *et al*., 2010) و کم‌باردهی (Alipour *et al*., 2014) است. به همین دلیل، برنامه‌های اصلاحی و به‌نژادی این محصول با اهداف رفع مشکلات فوق، طی دهه‌های اخیر مد نظر بوده است. به منظور تبیین خصوصیات دقیق رقم‌های بومی و محلی درخت به، Manee (1994) به بیان خصوصیات عمده و مهم رقم‌های این درخت در کشور به صورت کیفی پرداخت. اولین برنامه ارزیابی دقیق ژرم‌پلاسم درخت به، توسط Razavi *et al*. (1999) روی ژرم‌پلاسم درخت به استان اصفهان انجام شد. متعاقب آن، با گسترش بیماری آتشک و لزوم دستیابی به منابع تحمل به این بیماری، ژرم‌پلاسم درخت به کشور از استان‌های اصفهان، خراسان رضوی، آذربایجان، اردبیل، تهران و گیلان جمع‌آوری و پس از گزینش مقدماتی، در کلکسیون درخت به مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (Naeimi *et al*., 2020; Abdollahi *et al*., 2011) در سال ۱۳۸۵ مستقر شد. ارزیابی خصوصیات رویشی و زایشی و باردهی (Alipour *et al*., 2014) و تحمل به بیماری آتشک در شرایط باغ (Ahmadi *et al*., 2013) و گلخانه (Mehrabipour *et al*., 2010) و ارزیابی خصوصیات چشایی (Organoleptic) و متابولیت‌های ثانویه (Amirahmadi *et al*., 2017) به منظور گزینش رقم‌های قابل رقابت با رقم به اصفهان، طی بیش از یک دهه روی این ژرم‌پلاسم جمع‌آوری شده، منجر به گزینش پنج ژنوتیپ امیدبخش و برتر گردید. از میان این رقم‌های امید بخش، در سال ۱۳۹۳، رقم جدید به ویدوجا (Viduja) که به صورت یک ژنوتیپ بذری با کد KVD1 (ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۱) با سطح تحمل بهتر به بیماری آتشک جمع‌آوری شده بود، معرفی و آزادسازی شد (SPII, 2015; Abdollahi, 2021).

با توجه به اهمیت وجود شاخص‌های شناسایی، تفکیک و تمایز رقم‌ها در محصولات مختلف، به‌ویژه رقم‌های جدید درختان میوه، به منظور حفظ مالکیت و کسب اطمینان از نو بودن رقم، اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی (UPOV) در سال ۲۰۰۳ میلادی، نسبت به انتشار توصیف‌گر صفات

مورفولوژیک درخت به اقدام نمود (UPOV, 2003). ارزیابی مقدماتی ژرم‌پلاسم به کشور، حاکی از وجود تنوع صفات قابل توجه‌تر در ژرم‌پلاسم بومی در مقایسه با رقم‌های موجود در توصیف‌گر اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی بوده و لذا تعداد صفات دستورالعمل ملی تمایز، یکنواختی و پایداری در رقم‌های درخت به کشور، به ۵۵ صفت (Khandan *et al*., 2011) افزایش داده شد. همچنین براساس بررسی‌های Yamamoto *et al*. (2004) در رابطه با امکان استفاده از نشانگر توالی‌های ساده تکراری (SSR) برای شناسایی و تمایز رقم‌های درخت به ژاپن، ترکیه، اروپا و آمریکا، اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی، اقدام به انتشار دستورالعمل شناسایی رقم‌های درخت به براساس نشانگر مولکولی توالی‌های ساده تکراری (SSR) نمود (Kimura *et al*., 2005).

با توجه به معرفی رقم‌های تجاری و امیدبخش جدید درخت به کشور و تکثیر اولیه هسته‌های این مواد در نهالستان‌های خصوصی و مؤسسات تحقیقاتی، لازم است مواد گیاهی فوق به منظور جلوگیری از تداخل و به‌منظور دارابودن شناسنامه دقیق، مورد بررسی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری قرارگیرند. به این منظور، در تحقیق اخیر به تعیین شناسنامه مولکولی و مورفولوژیک و بررسی امکان تمایز رقم‌های جدید و امید بخش درخت به کشور، در مقایسه با رقم تجاری به اصفهان پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل رقم تجاری به اصفهان، دو رقم معرفی شده به ویدوجا (SPII, 2015) و بهتا هر دو گزینش شده از میان توده‌های بذری ژنوتیپ‌های به منطقه اصفهان و سه ژنوتیپ امیدبخش و گزینش‌شده بذری از ژرم‌پلاسم منطقه اصفهان با کدهای اصفهان-۲، اصفهان-۳ و اصفهان-۵ بودند، که همگی این ژنوتیپ‌های امیدبخش، پس از گزینش اولیه در قالب برنامه ارزیابی سازگاری در دو استان اصفهان و البرز به مدت ۱۰ سال مورد بررسی مقدماتی به منظور ارزیابی ژنوتیپ‌های امیدبخش و برتر قرار گرفته‌اند. ارزیابی مورفولوژیک بین سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳ و ارزیابی‌های مولکولی بین سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۷ انجام گرفت. لازم به ذکر است انتخاب رقم‌های فوق براساس استاندارد آزمون‌های تمایز رقم‌ها و ژنوتیپ‌های گزینش شده صورت گرفته و از ارزیابی ژنوتیپ‌های نامشخص و غیرتجاری اجتناب شد.

### ارزیابی براساس نشانگرهای مورفولوژیک

ارزیابی رقم‌های موردنظر براساس نشانگرهای مورفولوژیک طی سال‌های ۱۳۹۲تا۱۳۹۳ انجام شد. ارزیابی صفات در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمالشهر کرج وابسته به پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی واقع در استان البرز صورت گرفت. درختان مورد نظر درسال شروع مطالعه،۱۰ ساله بوده و ضمن باردهی کامل، به صورت محور مرکزی تغییریافته هرس شده بودند. نشانگرهای مورفولوژیک مورد بررسی براساس ۳۸ صفت رویشی و زایشی دستورالعمل اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی در درخت به، انجام گرفت (UPOV, 2003). این خصوصیات شامل پنج صفت از فرم عمومی درخت،شش صفت از شاخه یکساله، ۱۱ صفت از برگ،شش صفت از شکوفه و۱۰ صفت از صفات مربوط به میوه بود (جدول ۲). صفات ستاره‌دار این دستورالعمل به عنوان صفاتی که در تمایز رقم‌های درخت به دارای کارآیی بیش‌تری می‌باشند، مد نظر قرار گرفت که در جدول ۲ نمایش داده شده است. کلیه اندازه‌گیری‌ها مربوط به صفات عمومی درخت روی پنج درخت براساس استاندارد ارائه شده با حداقل ۱۰ تکرار روی هر درخت انجام شد. صفات کیفی قابل تبدیل به صفات کمی، شامل طول و عرض برگ، طول دمبرگ، فاصله میان‌گره و صفات مربوط به میوه ابتدا به صورت کمی مورد اندازه‌گیری و سپس به صورت مقایسه‌ای به صفات کیفی تبدیل شدند. ارزیابی کلیه صفات مربوط به درخت و شاخه یک‌ساله، طی ماه‌های آذر،دی و بهمن، بعد از خزان کامل درخت انجام شد. صفات عمومی درخت، شامل قدرت و عادت رشد، زمان آغاز گلدهی و برگدهی و زمان رسیدن میوه روی درخت بود. صفات برگ شامل طول و عرض پهنک، شکل پهنک، وجود یا عدم وجود نوک، طول و زاویه نوک برگ، شکل قاعده برگ، طول

دم‌برگ، وجود یا عدم وجود گوشوارک و اندازه آن بود. به منظور ارزیابی این صفات، تعداد ۲۰ برگ بالغ در نیمه دوم تابستان از هر درخت و پنج درخت از هر ژنوتیپ جدا و ارزیابی شد. علاوه بر صفات دستورالعمل، روند زردشدن و ریزش برگ‌ها از نیمه دوم شهریور ماه ثبت و زمان خزان در درختان به صورت خزان زودرس، متوسط و دیررس ثبت شد. صفات مورد بررسی در گل شامل اندازه گلبرگ، رنگ گل، موقعیت حاشیه گلبرگ‌ها نسبت به هم، مواج بودن حاشیه گلبرگ‌ها، موقعیت کلاله نسبت به پرچم‌ها، اندازه کاسبرگ، شکل کاسبرگ و زمان گلدهی بودند. به منظور بررسی خصوصیات مورد نظر درگل نیز، تعداد ۲۰ شکوفه از هر درخت مورد بررسی قرار گرفت.

**ارزیابی براساس نشانگرهای مولکولی**

برای استخراج DNA از برگ‌های تازه و روش ترکیبی CTAB و SDS استفاده شد (Khoramdel Azad *et al.*, 2008). ارزیابی غلظت و میزان خلوص DNA با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام گرفت. از میان ۱۷۰ جفت آغازگر شناسایی شده برای نشانگر توالی‌های ساده تکراری (SSR) درختان سیب و از میان تعداد ۴۰ جفت آغازگر شناسایی شده برای درخت گلابی، به ترتیب نه و شش جفت آغازگر که براساس بررسی Khoramdel Azad *et al.* (2013) در رقم‌ها و ژنوتیپ‌های بومی درخت به، با میزان هتروزیگوسیتی بالا تکثیر می‌شوند، انتخاب شد (جدول ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدل گرادیانت اپندورف (Eppendorf-Germany) انجام و دمای بهینه اتصال هرجفت آغازگر تعیین شد. غلظت $MgCl_2$ در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۰ پیکومول، میزان DNA ۱۰۰ نانوگرم و غلظت آغازگر ۵ پیکومول برای آغازگرها بود. سایر اجزای ثابت واکنش PCR، به میزان ۰/۵ میکرولیتر بافر واکنش ۱۰ برابر غلظت، یک واحد آنزیم DNA پلی‌مراز و ۰/۵ میکرولیتر از محلول مادری dNTPs با غلظت ۱۰ میلی‌مولار براساس Yamamoto *et al.* (2004) بود. تفکیک باندهای حاصله ابتدا روی ژل آگاروز ۳ درصدانجام شد. برای تفکیک دقیق‌تر باندها، از تانک الکتروفورز عمودی، با ژل پلی‌آکریل آمید ۶ درصد با ولتاژ ۱۵۰۰ ولت و شدت جریان ۳۰ میلی‌آمپر در دمای ثابت ۴۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

**آنالیز آماری**

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel و SPSS صورت گرفت. برای تجزیه عاملی داده‌های مورفولوژیک از نرم‌افزارSPSS و با استفاده از تکنیک چرخش عامل‌ها و به‌روش وریماکس استفاده شد. در هر عامل اصلی و مستقل ضرایب عاملی ۰/۵۵ به بالا معنی‌دار در نظر گرفته شدند. همچنین آنالیز کلاستر با روش وارد و محاسبه فواصل بعد از استاندارد کردن داده‌ها انجام گرفت. برای داده‌های مولکولی با استفاده از اطلاعات آلل‌های پلی‌مورف تکثیرشده توسط هر جفت آغازگر، محتوای اطلاعات چندشکلی (Polymorphism Information Content) با استفاده از فرمول $H=1-\sum Pi2$ محاسبه شد که در آن P فراوانی آلل iام می‌باشد (Nei, 1973). تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی با استفاده از نرم‌افزار GeneAlex (نسخه ۶) انجام گرفت. همچنین با توجه به محدود بودن مواد گیاهی به رقم‌هایتجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش در ارزیابی‌های تمایز، یکنواختی و پایداری (DUS)، بررسی ارتباط بین داده‌های مورفولوژیک و مولکولی انجام نشد.

## نتایج و بحث

ارزیابی رقم‌های تجاری و امیدبخش مورد بررسی در این تحقیق نشان‌دهنده تنوع قابل توجه رقم‌ها در هر دو گروه نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی مورد استفاده بود، به‌صورتی‌که تفکیک رقم‌ها براساس هر دو نشانگر مشاهده شد.

**نشانگرهای مورفولوژیک صفات رویشی**

از میان نشانگرهای مورفولوژیک مورد استفاده برای تمایز و شناسایی رقم‌های درخت به، دو صفت قدرت رشد و عادت رشد متعلق به صفات عمومی درخت است که هر دو از صفات ستاره‌دار و تعیین‌کننده به این منظور تعیین شده است (UPOV, 2003).

جدول ۱. اسامی و توالی آغازگرهای مورد استفاده در ارزیابی نشانگرهای توالی‌های ساده تکراری متمایزکننده رقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به

Table 1. Name and nucleotide sequence of primers used for discrimination of quince commercial and promising cultivars by simple sequence repeats (SSR) markers

| No. | Primer set names | Forward and reverse primers | |
|---|---|---|---|
| Selected primers from apple (Gianfranceschi *et al*. 1998, Guilford *et al*. 1997, Hokanson, *et al*.2001, Liebhard *et al*. 2002) | | | |
| 1 | CH05d04 | act tgt gag ccg tga gag gt | tcc gaa ggt atg ctt cga tt |
| 2 | NZ02b01 | ccg tga tga caa agt gca tga | atg agt ttg atg ccc ttg ga |
| 3 | CH04a12 | cag cct gca act gca ctt at | atc cat ggt ccc ata aac ca |
| 4 | CH04e03 | ttg aag atg ttt ggc tgt gc | tgc atg tct gtc tcc tcc at |
| 5 | CH02h11a | cgt ggc atg cct atc att tg | ctg ttt gaa ccg ctt cct tc |
| 6 | CH03g06 | atc cca cag ctt ctg ttt ttg | tca cag aga atc aca agg tgg a |
| 7 | CH02b10 | caa gga aat cat caa aga ttc aag | caa gtg gct tcg gat agt tg |
| 8 | CH02d08 | tcc aaa atg gcg tac ctc tc | gca gac act cac tca cta tct ctc |
| 9 | CH01d08 | ctc cgc cgc tat aac act tc | tac tct gga ggg tat gtc aaa g |
| Selected primers from pear (Yamamoto *et al*. 2002a, 2002b, 2002c & 2004) | | | |
| 1 | NB103a | ttg tag gga aaa tga agc ca | gtg ttg ata ctc tct ctc tc |
| 2 | NH030a | gca aca gat agg agc aaa gag gc | tcc aaa gtt caa cac aga tca aga g |
| 3 | NH029a | gaa gaa aac cag agc agg gca | cct ccc gtc tcc cac cat ctt ag |
| 4 | NH015a | ttg tgc cct ttt tcc tac c | ctt tga tgt tac ccc ttg ctg |
| 5 | NH011b | ggt tca cat aga gag aga gag | ttt gcc gtt gga ccg agc |
| 6 | NH007b | tac ctt gat ggg aac tga ac | aat agt aga ttg caa tta ctc |

از میان رقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به مورد بررسی، دو ژنوتیپ اصفهان-۳ و اصفهان-۵ دارای قدرت رشد ضعیف و سایرین قدرت رشد متوسط بودند (جدول ۲، شکل ۱).

در بررسی Razavi *et al*. (1999)، تفاوت معنی‌داری از کم‌رشد تا بسیار پررشد در قدرت رشد ژنوتیپ‌های درخت به منطقه اصفهان گزارش شده است. همچنین در بررسی‌های قبلی طبقه‌بندی متمایزکننده‌ای در نشانگرهای مورفولوژیک (Alipour *et al*., 2014) و مولکولی (Khoramdel Azad *et al*., 2013) ژنوتیپ‌های درخت به منطقه اصفهان گزارش شد. در بررسی Alipour *et al*. (2014)، ژنوتیپ‌های درخت به منشأ گرفته از منطقه شمال استان اصفهان، شامل نطنز و کاشان اغلب دارای قدرت رشد کم و عادت رشد گسترده بودند. با توجه به اینکه رقم‌های ویدوجا، اصفهان-۲، اصفهان-۳ و اصفهان-۵، همگی از میان توده‌های بذری منشأ گرفته از منطقه شمال استان اصفهان مورد گزینش قرار گرفته‌اند، لذا مشاهده قدرت رشد ضعیف و عادت رشد گسترده در اغلب آنها چندان دور از انتظار نیست. در این بین، رقم ویدوجا و اصفهان-۲، گرچه در زمره رقم‌های متوسط رشد طبقه‌بندی شدند، لیکن در این محدوده، دارای پایین‌ترین میزان رشد بودند، به‌صورتی‌که می‌توان رقم‌های فوق را به‌عنوان رقم‌های نیمه‌پاکوتاه طبقه‌بندی کرد. با توجه به وجود خصوصیات حد واسط و متمایز کننده در این صفت و تأثیر قابل‌توجه آن در شناسایی و تمایز رقم‌های درخت به، لازم است در توصیف گر ملی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری درخت به، دو سطح رشد نیمه‌پاکوتاه و نیمه‌پابلند به سه سطح این صفت اضافه گردد. همچنین دو رقم اصفهان-۳ و اصفهان-۵ دارای عادت رشد گسترده و سایر رقم‌های دارای عادت رشد عمودی یا تقریباً عمودی بودند (جدول ۲) (شکل ۱). بررسی‌های قبلی نشانگرهای مورفولوژیک، نشان‌دهنده پیوستگی قابل توجه صفت کم‌رشدی با عادت‌رشد گسترده در درختان میوه دانه‌دار بوده است، به صورتی که در درخت گلابی نیز رقم‌های پررشدی نظیر درگزی و اسپادونا دارای رشد به شدت عمودی (Tahzibi hagh *et al*., 2011) بودند. نکته دیگر اهمیت رعایت زمان مناسب بررسی صفات مربوط به عادت رشد درخت است، به صورتی‌که ارزیابی در طول فصل تابستان به دلیل سنگینی میوه، به‌ویژه در ماه‌های شهریور و مهر، زمانی که شاخه‌های درخت زیر بار وزن میوه باز می‌شوند، امکان‌پذیر نبوده و لازم است این صفات در زمستان مد نظر قرار گیرد.

از میان خصوصیات مرتبط با عادت رشد شاخه‌های یکساله، شش صفت در توصیف گر آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری درخت به مد نظر قرار گرفته است (UPOV, 2003) و در این بین تنها رقم تجاری اصفهان دارای عادت رشد شاخه‌های کاملاً مستقیم بود. همچنین

رقم‌ها از نظر طول میانگره، در دو گروه میانگره کوتاه و متوسط بودند. هر دو صفت فوق از صفات غیرستاره‌دار توصیف گر آزمون‌های تمایز درخت به است که شناسایی سطوح مختلف این صفات در بین رقم‌هابه دلیل تنوع آن در بخش‌های مختلف درخت، دشوار به نظر می‌رسد. بر همین اساس به نظر می‌رشد که علاوه بر سطح تفاوت و پایداری صفت به عنوان ملاکی برای ستاره‌دار کردن صفت در توصیف گر، سهولت در تمایز سطوح صفت برای متخصصین نیز از ملاک‌های ستاره‌دار کردن صفت بوده است.

برخلاف دو صفت عادت رشد شاخه و طول میانگره، که دو صفت دشوار برای تمایز رقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به کشور مورد ارزیابی قرار گرفت، دو صفت وجود کرک در بخش بالایی شاخه و رنگ شاخه، از صفاتی بود که به راحتی قابل تمایز و تشخیص بود.

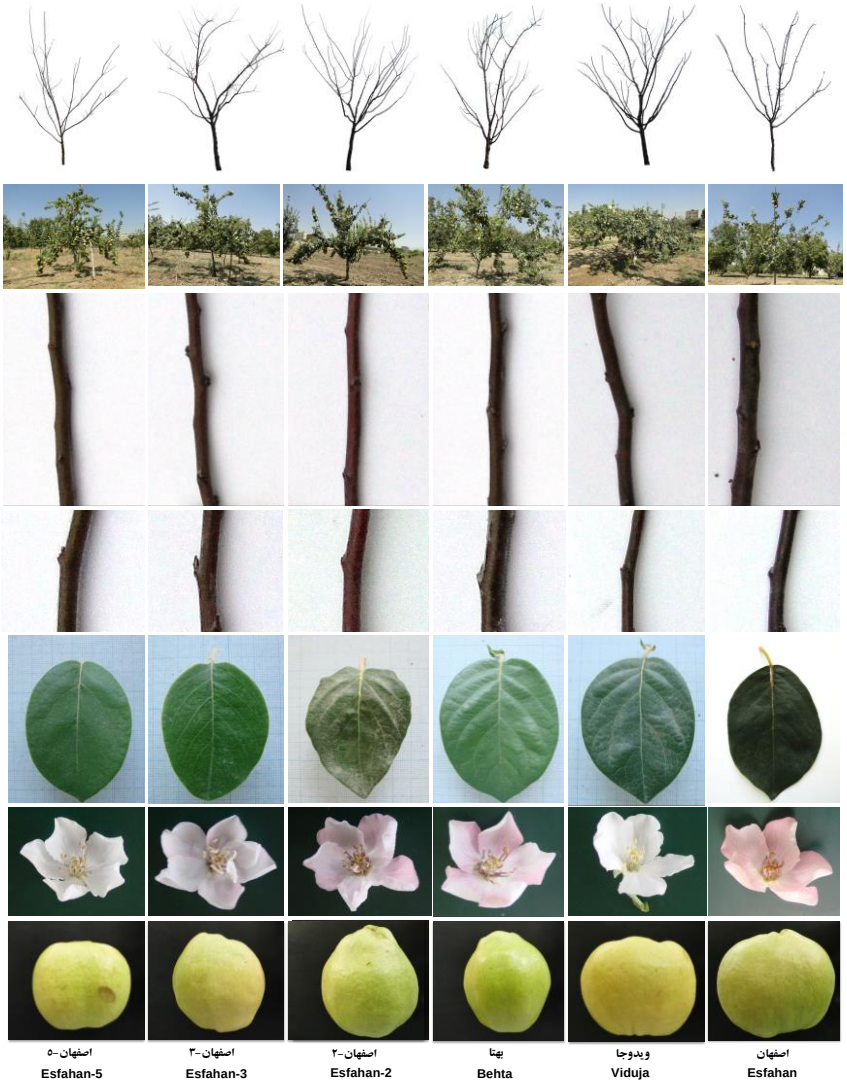
جدول ۲. مقایسه صفات مختلف مورفولوژیک رقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به براساس توصیف گر اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی (UPOV, 2003) با هدف شناسایی و تفکیک رقم‌ها از یکدیگر.

Table 2. Comparison of various morphological characteristics used for discrimination and identification of quince commercial and promising cultivars according to the UPOV (2003) descriptor

| | Tree part | Characteristics | Importance | Quince commercial and promising cultivars | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Esfahan | Viduja | Behta | Esfahan-2 | Esfahan-3 | Esfahan-5 |
| 1 | Tree | Tree vigor | * | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 |
| 2 | | Tree habit | * | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 3 |
| 3 | Shoots | Growth form | | 1 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 4 | | Internode length | | 3 | 3 | 3 | 5 | 5 | 5 |
| 5 | | Pubescence (upper third) | * | 5+7 | 5 | 7 | 7 | 7 | 5+7 |
| 6 | | Color | * | 5 | 3 | 4 | 3 | 4 | 2 |
| 7 | | Size of lenticels | | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 3 |
| 8 | | Vegetative bud position | | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 |
| 9 | Leaves | Attitude | * | 2+3 | 3 | 1+2 | 3 | 2 | 3 |
| 10 | | Length | * | 3 | 7 | 7 | 5 | 1 | 5 |
| 11 | | Width | * | 5 | 5 | 5 | 3 | 3 | 3 |
| 12 | | Shape | * | 3 | 2+3 | 3 | 3+(5) | 1+3 | 1 |
| 13 | | Shape of base | | 2 | 2 | 2 | 2+4 | 2 | 2 |
| 14 | | Angle at apex | * | 2+3 | 3 | 3 | 2+3 | 3 | 3 |
| 15 | | Length of tips | * | 3+5 | 3+5 | 3+5 | 3+5 | 3 | 3 |
| 16 | | Profile in cross section | | 2 | 2 | 1 | 2 | 1+2 | 1+2 |
| 17 | | Undulation of margin | | 3 | 5 | 1 | 3 | 1 | 1 |
| 18 | Petiole | Length | | 7 | 5 | 5 | 7 | 5 | 3 |
| 19 | Stipule | Size | | 5 | 3 | 5 | 5 | 1 | 1 |
| 20 | Blooms | Size | * | 5 | 5 | 5 | 7 | 3 | 3+5 |
| 21 | | Color | | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 22 | | Arrangement of petals | | 3 | 3 | 3 | 3 | 2+3 | 3 |
| 23 | | Petal shape | | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| 24 | | Undulation of margin of petals | | 5 | 3+5 | 3 | 5 | 3 | 5 |
| 25 | | Stigma position relative to anthers | | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| 26 | Fruits | Size | * | 7 | 5 | 7 | 5 | 5 | 5 |
| 27 | | General shape in longitudinal section | * | 2 | 2 | 2+4 | 2+4 | 1 | 2 |
| 28 | | Symmetry in longitudinal section | * | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 29 | | Neck | * | 9 | 1 | 9 | 1 | 9 | 9 |
| 30 | | Length of neck | * | 5 | --- | 5 | --- | 3 | 3 |
| 31 | | Prominence of ribs at stalk end | * | 3 | 3 | 5 | 7 | 5 | 5 |
| 32 | | Prominence of ribs at calyx end | * | 5 | 5 | 5 | 7 | 5 | 3+5 |
| 33 | | Stalk cavity | | 3 | 3 | 5 | 3 | 3 | 3 |
| 34 | | Size of eye basin | | 5 | 5 | 7 | 5 | 5 | 5 |
| 35 | | Color | | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 36 | Time | Time of leaf bud burst | * | 7 | 3 | 5 | 3 | 5 | 3 |
| 37 | | Time of beginning of flowering | * | 5 | 3 | 5 | 3 | 3 | 3 |
| 38 | | Time of beginning of fruit ripening | * | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |

- صفات ستاره‌دار به معنای صفات مهم و کلیدی در تشخیص و تمایز رقم‌های درخت به براساستوصیف‌گر اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی (UPOV, 2003) است. کدهای نادر داخل پرانتز در توصیف‌گر اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی درخت به وجودنداشته و از توصیف‌گر ملی درخت به (Khandan *et al*., 2011) استفاده شده است. در مورد صفات مورد ارائه کدهای پایین بیانگر طول و یا عرض کم، رشد ستونی، میزان کرک اندک، زوایای باریک، عمق کم فرورفتگی‌های میوه . رنگ روشن شاخه و یا زمان باز شدن زودهنگام‌تر جوانه گل یا برگ و رسیدن میوه است و بر عکس کدهای بالاتر بیانگر سطوح بالاتر صفات فوق می‌باشد (UPOV, 2003).

- Asterisked characteristics mean important and key characteristic for discrimination and identification of quince cultivars according to the UPOV (2003) descriptor. Rare codes signed in the parenthesis are not in UPOV (2003) quince descriptor, but used from national quince descriptor of Iran (Khandan *et al*., 2011). In the presented traits, lower codes demonstrate lower length or width, columnar growth, low pubescence, narrow angles, superficial cavities of the fruits, bright color of shoots and early burst of buds and blooms or fruit ripening. Higher codes demonstrate upper levels of the above-mentioned characters (UPOV, 2003).




شکل ۱. مقایسه عادت رشد و فرم درخت در شرایط خزان (ردیف اول از بالا) و باردهی (ردیف دوم از بالا)، رنگ و فرم شاخه یکساله (ردیف سوم از بالا)، موقعیت جوانه نسبت به شاخه (ردیف چهارم از بالا)، رنگ و فرم برگ (ردیف پنجم از بالا)، رنگ و فرم شکوفه (ردیف ششم از بالا) و فرم عمومی میوه (ردیف آخر) در رقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به مورد بررسی.

Figure 1. Comparison of the growth habit and tree form after fall (first row from up) and in bearing period (second row from up), color and form of one year old shoots (third row from up), position of vegetative bud in relation to shoot (forth row from up), color and form of leaf (fifth row from up), color and form of bloom (flower) (sixth row from up) and general form of fruit (last row) in commercial and promising quince cultivars used in this research.

در این بین، تمایز زیادی در بین رقم‌های تجاری و امیدبخش مورد نظر در رابطه با صفت وجود کرک در بخش بالایی شاخه مشاهده نشده و همه رقم‌های دارای میزان قابل توجهی از کرک در تمامی یا بخشی از شاخه‌های یکساله خود بودند (جدول ۲). نکته قابل توجه در این امر، وجود حالت‌های دوگانه از یک شاخص مورفولوژیک در یک رقم است، به صورتی که این امر در ارزیابی خصوصیات صفات ژنوتیپ‌های درخت گلابی (Tahzibi hagh *et al*., 2011) و به (Alipour *et al*., 2014) قبلاً مشاهده و گزارش شده است. از طرفی عدم وجود تنوع قابل توجه در صفت وجود کرک که در این رقم‌هاقدرت تمایز بالایی نداشت، شاید به دلیل منشأ مشترک رقم‌های فوق بوده، به صورتی که در بررسی Alipour *et al*. (2014)، هیچیک از ژنوتیپ‌های مورد بررسی از مناطق مختلف ایران، فاقد کرک در بخش بالایی شاخه نبودند. همچنین برخلاف صفت فوق، صفت رنگ شاخه در رقم‌های موردمطالعه بسیار متمایز و شناساگر بود، به

صورتی‌که رقم تجاری اصفهان با شاخه‌های قهوه‌ای تیره و رشد مستقیم در باغ و نهالستان از سایر رقم‌ها متمایز شد (جدول ۲). دو رقم ویدوجا و اصفهان-۲، منشأ گرفته از توده بذری کاشان دارای شاخه‌های قرمزقهوه‌ای بوده که در این بین رقم اصفهان-۲ با رنگ قرمز و با شدت رنگ قهوه‌ای کم‌تر، از رقم ویدوجا به خوبی قابل تمایز بود (شکل ۱). همچنین شاخه در رقم اصفهان-۵، با رنگ سبزقهوه‌ای به خوبی از سایر رقم‌ها متمایز گردید، با توجه به این نکته که رنگ سبزقهوه‌ای از رنگ‌های شاخه‌ای است که به ندرت در ژرم‌پلاسم بومی درخت به کشور مشاهده می‌شود (Alipour *et al*., 2014)، در صورت وجود این صفت در یک رقم تجاری یا امید بخش، ملاک بسیار مطمئنی برای تمایز رقم در کنار سایر صفات ستاره‌دار خواهد بود. همچنین در توصیف گر آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری درخت به (UPOV, 2003)، تنها رقم شمس (شمس اصفهان) به عنوان شاخص رقم با رنگ شاخه قهوه‌ای تیره مشخص شده است که نشان‌دهنده فراوانی این صفت در رقم‌های بومی منطقه مرکزی و به ویژه جلگه اصفهان است. اندازه عدسک در اغلب رقم‌های متوسط و موقعیت جوانه نسبت به شاخه در تمامی رقم‌ها به صورت چسبیده و تنها در رقم اصفهان۳ به صورت مجزا بود که به عنوان یک شاخص متمایزکننده در بین رقم‌های تجاری و امیدبخش مورد نظر برای این رقم بود (شکل ۱).

موقعیت برگ نسبت به شاخه در اغلب رقم‌ها یافقی یا به سمت پایین و علی‌رغم ستاره‌دار بودن صفت، استفاده از این صفت برای تمایز رقم‌ها به دلیل تنوع آن در بخش‌های مختلف درخت و تابعبت آن از شرایط درخت دشوار به نظر می‌رسد. طول برگ در دو رقم ویدوجا و بهتا بلند و در اصفهان-۳ کوتاه و در سایر رقم‌ها متوسط بود. ارزیابی کمی این صفت، نشان‌دهنده طول متوسط پهنک ۶۹/۱، ۷۳/۵، ۶۶/۵، ۵۶/۳، ۷۲/۴ و ۶۵/۶ میلی‌متر به ترتیب در رقم‌های اصفهان، ویدوجا، اصفهان-۲، اصفهان-۳، بهتا و اصفهان-۵ بود که با طبقه‌بندی فوق تاحد زیادی منطبق است. بر این اساس، به نظر می‌رسد به منظور طبقه‌بندی دقیق‌تر و کمی این صفت، طول پهنک کم‌تر از ۶۰ میلی‌متر محدوده کوتاه، طول پهنک بین ۶۰ تا ۷۰ میلی‌متر محدوده متوسط و طول پهنک بالای ۷۰ میلی‌متر محدوده بلند است. عرض برگ نیز در سه رقم متوسط و سه رقم عریض مشاهده شد (جدول۲). براساس داده‌های کمی، عرض برگ در رقم‌های اصفهان، ویدوجا، اصفهان-۲، اصفهان-۳، بهتا و اصفهان-۵ به ترتیب ۵۱/۱، ۵۶/۶، ۴۹/۱، ۴۵/۷، ۵۵/۶ و ۴۸/۱ میلی‌متر بود. بر این اساس، عرض کم‌تر از ۵۰ میلی‌متر عرض پهنک کم و عرض ۵۰ تا ۶۰ میلی‌متر متوسط طبقه‌بندی شد. دلیل این موضوع وجود عرض پهنک ۶۰ تا ۷۰ ملی‌متر در ژرم‌پلاسم درخت به ایران است که در بررسی Alipour *et al*.(2014) این محدوده به عنوان عرض پهنک زیاد در نظر گرفته شده است. تفاوت مشاهده شده در بین نتایج این بررسی با توصیف گر آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری درخت به در این است که در این توصیف گر عرض پهنک برگ در رقم اصفهان زیاد و در این بررسی متوسط طبقه‌بندی شده است.

این موضوع نشانگر وابسته‌بودن زیاد این طبقه‌بندی به محدوده رقم‌های مورد بررسی، لزوم ارائه اطلاعات کمی برای توصیف گرهای ملی (Khandan *et al*., 2011) و اتحادیه بین‌المللی محافظت از رقم‌های جدید گیاهی درخت به (UPOV, 2003) و همچنین بازنگری و اضافه نمودن محدوده‌های فراتر از محدوده‌های قبلی برای شناسایی و تمایز بهتر رقم‌ها و جلوگیری از ورود اطلاعات غلط در تمایز رقم‌ها است. شکل برگ در رقم اصفهان بیضوی، در رقم ویدوجا گرد و بیضوی، در رقم اصفهان-۲، بیضوی و عمدتاً به فرمی که در توصیف گر آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری درخت به تعریف نشده یعنی به شکل قلبی بود (جدول ۲).

بر این اساس، در توصیف گر ملی صفت فرم پهنک قلبی به فرم‌های موجود اضافه شده است ( Khandan *et al*., 2011). از طرفی صفت شکل پهنک قلبی به عنوان صفت شاخص و متمایز در شناسایی رقم اصفهان-۲ قابل استفاده است (شکل ۱). سایر رقم‌ها، شکل برگ بیضوی تا تخم‌مرغی داشتند (جدول ۲). از طرفی با توجه به مشکلات استفاده از صفات کلیدی برگ در تمایز رقم‌های درخت به، شاید افرودن صفتی به صورت اندازه کلی برگ می‌تواند مفید واقع شود، که

در این بررسی، رقم‌های اصفهان-۲، اصفهان-۳ و اصفهان-۵ کوچک‌ترین اندازه برگ را به صورت ظاهری و همچنین براساس اطلاعات کمی طول و عرض پهنک نشان دادند و از خصوصیات پایدار و متمایز کننده این رقم‌ها در بین رقم‌های تجاری و امیدبخش به کشور است.

در رابطه با دیگر صفات برگ، شکل قاعده، زاویه انتهای برگ و مقطع عرضی برگ علی‌رغم ستاره‌دار بودن دو صفت اول در بین رقم‌ها چندان متمایزکننده نبود، به صورتی شکل قاعده، در همه رقم‌ها یکنواخت و گرد بود (شکل ۱، جدول ۲). نتایج مشاهده شده این تحقیق با نتایج Alipour *et al.* (2014) منطبق بوده، به صورتی که صفات فوق، قدرت تمایز بالایی حتی در طیف گسترده‌ای از ژنوتیپ‌های بومی مناطق مختلف کشور اعم از استان‌های گیلان، خراسان و اصفهان نداشت. بر خلاف این، مواج بودن برگ از صفات بسیار شاخص و ثابت در رقم‌ها بود، به صورتی که در رقم‌های اصفهان-۳، بهتا و اصفهان-۵ برگ‌ها بدون موج یا با موج ناچیز (در رقم بهتا براساس شکل ۱)، در رقم اصفهان و اصفهان-۲ کم و در رقم ویدوجا متوسط بود. همچنین دو صفت غیرستاره‌دار طول دمبرگ و گوشوارک‌ها دارای تنوع قابل‌توجهی در رقم‌ها بودند (جدول ۲).

**نشانگرهای مورفولوژیک صفات زایشی**

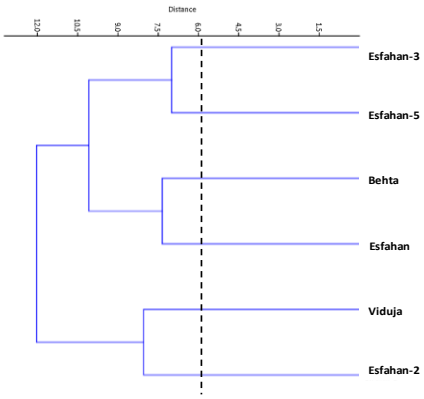
در بین صفات زایشی مربوط به شکوفه که در توصیف گر آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری درخت به (UPOV, 2003) مورد توجه قرار گرفته است، تنها صفت اندازه گل ستاره‌دار می‌باشد. اندازه شکوفه در رقم اصفهان-۲ بزرگ و در سایر رقم‌ها متوسط یا کوچک بود (جدول ۲). همچنین رنگ شکوفه گرچه تا حدی تابع سال و شرایط اقلیمی در رقم‌هایبه است، در این بررسی، در رقم‌های اصفهان و اصفهان-۳ و بهتا صورتی و در دیگر رقم‌های سفید بود. براساس بررسی‌های قبلی، اغلب ژنوتیپ‌های منشأ گرفته از نواحی شمالی استان اصفهان دارای شکوفه سفیدرنگ و رقم تجاری اصفهان دارای رنگ شکوفه گلبهی (صورتی) است که از خصوصیات متمایزکننده این رقم از رقم ویدوجا به حساب می‌آید. این خصوصیت شاخص به اصفهان، با نتایج Razavi *et al.* (1999) منطبق است. همچنین، رقم‌های مورد بررسی از نظر آرایش گلبرگ‌ها متمایز و متفاوت نبوده و همگی همپوشانی محدودی روی لبه گلبرگ داشتند (جدول ۲)، که با نتایج حاصل از تنوع این صفت روی ژنوتیپ‌های بذری منشأ گرفته از اصفهان توسط Alipour *et al.* (2014) منطبق است. شکل گلبرگ نیز در دو رقم دارای میوه بزرگ شامل رقم‌های اصفهان و بهتا، بیضوی و در سایر رقم‌ها نظیر رقم ویدوجا گرد بود. بر این اساس، این صفت نیز از دیگر صفت متمایز کننده رقم اصفهان از رقم ویدوجا به تنهایی محسوب می‌گردد. همچنین دو رقم اصفهان-۳ و بهتا دارای حاشیه گلبرگ‌هایی با موج کم و سایرین با موج زیاد و تنها در رقم بهتا، سطح کلاله با بساک‌ها همسطح و در سایرین پایین‌تر بود (جدول ۲).

برخلاف شش صفت شکوفه که به زحمت می‌تواند برای شناسایی و تمایز رقم‌های درخت به مد نظر قرار گیرد و به همین دلیل تعداد محدودی از صفات گل به صورت ستاره‌دار مد نظر توصیف گر آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری درخت به (UPOV, 2003) قرار گرفته است، صفات میوه شاید به عنوان اصلی‌ترین صفات در شناسایی رقم‌ها کاربرد داشته و بیش‌ترین درصد صفات ستاره‌دار را به خود اختصاص داده است (جدول ۲). در بین رقم‌های مورد بررسی، دو رقم اصفهان و بهتا دارای میوه بسیار بزرگ و سایر رقم‌ها میوه‌های متوسط بودند. میوه‌ها در اغلب رقم‌ها گرد و در رقم اصفهان-۳ تنها بیضوی و تا حدی متمایل به گلابی شکل دیده شد که از صفات کلیدی و متمایزکننده این رقم است (شکل ۱). گردن میوه در دو رقم ویدوجا و اصفهان-۲ وجود نداشت و میوه در سایر رقم‌ها واجد گردن بود. نکته حائز اهمیت در اینجا، اندازه گردن است که در برخی رقم‌ها بسیار بزرگ و در برخی کوتاه و فرورفته در گودی دمگاه میوه است، به صورتی که در تصویر میوه از کنار قابل آشکار شدن نیست (شکل ۱). این خصوصیت در صفت طول گردن در میوه مشخص می‌گردد. همچنین اندازه حفره گلگاه و دمگاه میوه تنها در رقم بهتا از دیگر رقم‌ها بزرگ‌تر بود که همراه با فرم میوه و اندازه گردن از صفات متمایزکننده این رقم در مقایسه با دیگر رقم‌های تجاری و امیدبخش است. همچنین بر خلاف رقم‌های مختلف درخت گلابی که به راحتی از طریق اندازه و رنگ میوه

قابل شناسایی و تمایز هستند (Tahzibi hagh *et al.*, 2011)، رقم‌های مختلف درخت به ایران، همگی به رنگ زرد طلایی بوده و حتی رنگ زردنارنجی که در برخی از رقم‌ها نظیر مولداونستی(Moldovenești) قابل مشاهده است (UPOV, 2003)، در رقم‌های کشور مشاهده نشد. همچنین در بررسی Alipour *et al.*(2014)، هیچیک از رقم‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف درخت به کشور رنگ زرد نارنجی نداشتند. تنها در برخی از ژنوتیپ‌های وحشی و بومی منطقه گیلان در مرحله رسیدگی کامل، رنگ زردکم‌رنگ میوه قابل مشاهده است که این رقم‌ها نیز در سایر مناطق رنگ زرد طلایی به خود می‌گیرند.

زمان بازشدن جوانه‌ها در رقم‌های ویدوجا، اصفهان-۲ و اصفهان-۵ زود و تنها دو رقم اصفهان و بهتا، که از نظر خصوصیات متعدد میوه نیز شباهت‌های داشتند، دیرگل بودند. البته لازم به ذکر است که با توجه به دیرگل بودن عمومی درخت به در مقایسه با دیگر درختان میوه، این خصوصیت برخی رقم‌ها، معمولاً سبب خسارت سرمای بهاره به شکوفه‌ها نخواهد شد. همچنین همگی رقم‌های درخت به دیررس بوده و میوه آنها از انتهای مهر شروع به تغییر رنگ داده و در اوایل آبان ماه به بعد قابل برداشت بودند (جدول ۲)، که نشانگر عدم کارآیی این صفت نیز در تمایز رقم‌های تجاری و امیدبخش مورد نظر است.

تجزیه به عامل‌ها نشان داد که سه مولفه اصلی توانستند بعد از چرخش وریماکس، ۱۰۰ از واریانس کل را در خود جای دهند و به این ترتیب سه عامل اول در تعیین اهمیت صفات دخیل شناخته شدند. عامل اول با قرار دادن بیش‌ترین صفات مورفولوژیک درخت، توجیه کننده صفات درخت بود و عامل‌های دوم و سوم با قرار دادن صفات برگ و میوه به ترتیب توجیه کننده این صفات از ویژگی‌های مربوط به ژنوتیپ‌هابودند. همچنین نتایج تجزیه خوشه‌ای با استفاده از داده‌های خصوصیات مورفولوژیک بیانگر تمایز کلیه رقم‌ها و ژنوتیپ‌های امیدبخش از یکدیگر بود. از سوی دیگر این نتایج نشان‌دهنده گروه بندی رقم بهتا با رقم اصفهان در یک خوشه و رقم ویدوجا و اصفهان-۲ در خوشه‌های مجزا بود. در این بین رقم اصفهان و بهتا هر دو دارای رشد افراشته بوده و با فرم میوه گردن‌دار دارای منشأ دشت اصفهان می باشند. از سوی دیگر دو رقم و ژنوتیپ ویدوجا و اصفهان-۲ از منشأ کاشان و از نظر خصوصیات عمومی و عادت رشد مشابه یکدیگر می‌باشند (شکل ۲).




شکل ۲. گروه‌بندی رقم‌های تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش مورد بررسی درخت به براساس روش وارد

Figure 2. Cluster analysis of commercial cultivars and promising genotypes of evaluated quinces according to the Ward`s method

**نشانگرهای مولکولی**

از میان ۱۵ جفت آغازگر مربوط به مکان‌های ژنی توالی‌های ساده تکراری (SSR) سیب و گلابی، ۱۳ جفت آغازگر قادر به تکثیر باند بوده و دو جفت آغازگر NZ02b01 و NH029a در رقم‌های تجاری و امیدبخش مورد بررسی هیچ آللی تکثیر نکرد. همچنین جفت آغازگر مکان ژنی CH02h11a دو آلل با طول ۱۲۰ و ۱۲۳ جفت باز تکثیرنمود که در تمامی رقم‌های تجاری و امیدبخش مورد بررسی، آلل‌ها به طور یکنواختی تکثیر شده و فاقد تنوع بودند (جدول ۳). در این نشانگر همچنین تعداد ۱۰ آلل چند شکل و متوسط آلل ۳/۳ به‌ازای هر لوکوس مشاهده شد. بیش‌ترین تعداد باند و شاخص PIC با استفاده از آغازگرهای CH05d04، CH04a12 و CH02b10 به دست آمد. از سوی دیگر آغازگرهای CH04a12، CH05d04 و Ch02b10 بیش‌ترین قدرت تمایز رقم‌ها و ژنوتیپ‌های امیدبخش را را داشتند. بر این اساس، ۱۲ جفت آغازگر مربوط به مکان‌های ژنی مشخص شده در جدول ۴، علاوه بر تکثیر باندهای مربوط به مکان‌های ژنی، قادر به ایجاد تمایز (Discrimination) و شناسایی رقم‌های مورد بررسی بودند.

جدول ۳. نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرازی روی مکان‌های ژنی توالی‌های ساده تکراری رقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به مورد بررسی با استفاده آغازگرهای مختلف سیب و گلابی با هدف شناسایی و تمایز رقم‌ها

Table 3. Results of polymerase chain reaction on simple sequence repeat loci of evaluated commercial and promising quince cultivars aimed at identification and discrimination of cultivars

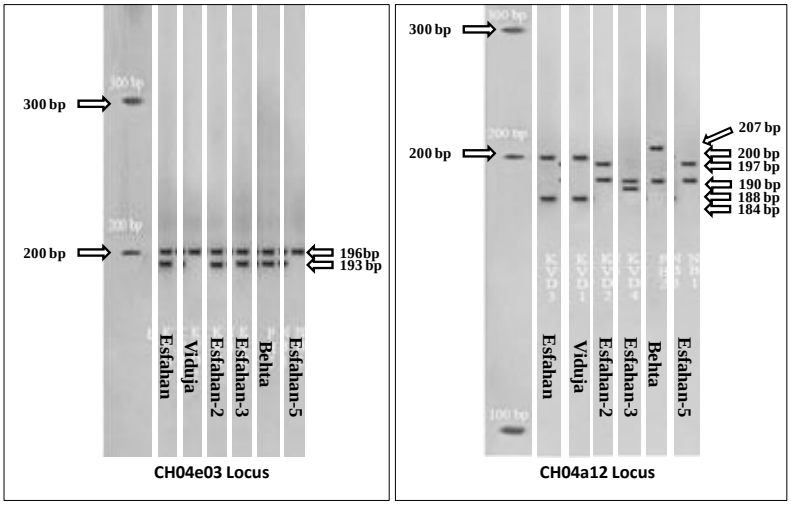
| | Gene locus | Annealing temperature (°C) | Size of bands (bp) | Alleles number(No) | PIC |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Selected primers from apple | | | |
| 1 | CH05d04 | 53 | 185-196 | 6 | 0.83 |
| 2 | NZ02b01 | --- | --- | --- | --- |
| 3 | CH04a12 | 56.5 | 184-203 | 6 | 0.89 |
| 4 | CH04e03 | 57 | 193 | 1 | --- |
| 5 | CH02h11a | --- | --- | --- | --- |
| 6 | CH03g06 | 54 | 136-153 | 2 | 0.60 |
| 7 | CH02b10 | 58 | 176-188 | 6 | 0.84 |
| 8 | CH02d08 | 58 | 150-152 | 3 | 0.79 |
| 9 | CH01d08 | 54.5 | 157-172 | 3 | 0.77 |
| | | Selected primers from pear | | | |
| 10 | NH007b | 55 | 193-197 | 2 | 0.81 |
| 11 | NB103a | 56 | 137-150 | 3 | 0.85 |
| 12 | NH030a | 56 | 220 | 1 | --- |
| 13 | NH029a | --- | --- | --- | --- |
| 14 | NH015a | 55 | 136-142 | 4 | 0.75 |
| 15 | NH011b | 60 | 218-233 | 3 | 0.78 |

جدول ۴. آلل‌های دارای قدرت تمایز براساس الگوی باندی در مکان‌های مختلف ژنی توالی‌های ساده تکراری در رقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به

Table 4. Alleles with discrimination ability based on patterns of banding in different loci of simple sequence repeats in commercial and promising quince cultivars

| | | | Quince cultivars | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Gene locus | Allele | Allele size | Esfahan | Viduja | Behta | Esfahan-2 | Esfahan-3 | Esfahan-5 | Identified cultivars |
| CH01d08 | I | 157 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | Behta |
| | II | 163 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | Behta, Esfahan-5 |
| | III | 172 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | --- |
| CH02d08 | I | 150 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | Behta |
| | II | 151 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | --- |
| | III | 152 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | --- |
| CH04a12 | I | 184 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | Esfahan, Viduja |
| | II | 188 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | Esfahan -3 |
| | III | 190 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | --- |
| | IV | 197 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | Esfahan -2 |
| | V | 200 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | Esfahan, Viduja |
| | VI | 203 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | Behta |
| CH05d04 | I | 185 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | Behta |
| | II | 187 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | Esfahan, Esfahan -3 |
| | III | 192 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | --- |
| | IV | 193 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | Esfahan-5 |
| | V | 195 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | --- |
| | VI | 196 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | Esfahan-5 |
| CH03g06 | I | 136 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | Esfahan -3 |
| | II | 153 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | Viduja, Esfahan-2 |
| NB103a | I | 137 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | Esfahan |
| | II | 148 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | Esfahan, Viduja |
| | III | 150 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | --- |
| NH007b | I | 193 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | Behta |
| | II | 197 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | --- |
| NH011b | I | 218 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | --- |
| | II | 220 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | --- |
| | III | 233 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | Esfahan-5 |
| NH030a | I | 220 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | --- |
| CH04e03 | I | 193 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | --- |
| NH015a | I | 136 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | Viduja |
| | II | 138 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | --- |
| | III | 141 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | Behta |
| | IV | 142 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | --- |
| CH02b10 | I | 176 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | Behta, Esfahan-5 |
| | II | 178 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | Esfahan-3 |
| | III | 182 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | Behta |
| | IV | 184 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | --- |
| | V | 188 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | Esfahan-3 |
| | VI | 189 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | --- |

– Allele sizes have demonstrated in base pairs. - طول آل‌ها به صورت جفت باز نشان داده شده است.

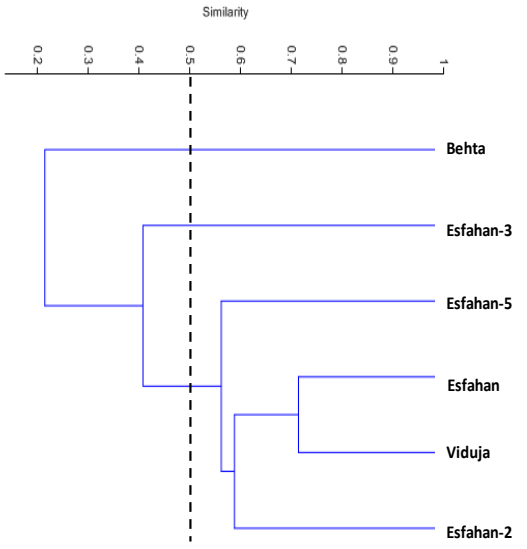



شکل ۳. مقایسه الگوی باندی حاصل از دو نشانگر مولکولی توالی‌های ساده تکراری (SSR) مربوط به دو مکان ژنی(لوکوس) CH04a12(سمت راست) و مکان ژنی(لوکوس) CH04e03(سمت چپ) در رقم‌های درخت به مورد بررسی.

Figure 3. Comparison of the banding patterns, obtained by simple sequence repeats (SSR) markers from two gene loci CH04a12(right) and CH04e03(left) in quince cultivars used in this research.

همچنین براساس اطلاعات به‌دست‌آمده از داده‌های بررسی رقم‌ها با استفاده از نشانگر توالی‌های ساده تکراری، مشخص شد که هیچیک از رقم‌های درخت به مورد نظر، تکراری نبوده و همگی همان‌گونه که براساس نشانگرهای مورفولوژیک صفات رویشی و زایشی از همدیگر متمایز شدند، براساس نشانگر مولکولی نیز قابل تمایز بودند. از میان آلل‌های تکثیرشده توسط ۱۲ جفت آغازگر مناسب برای تمایز و شناسای یرقم‌های تجاری و امیدبخش درخت به، مجموعاً ۴۰ آلل دارای تنوع حداقل در یکی از رقم‌های درخت به بودند، به‌صورتی‌که تعداد آلل‌های متمایزکننده رقم‌ها در جدول ۴ برای هر جفت آغازگر مشخص شده است. در این بین بیش‌ترین تعداد آلل متمایزکننده متعلق به سه مکان‌ژنی CH04a12، CH05d04 و Ch02b10 بود که هر سه دارای ۶ آلل تکثیر شده در رقم‌های درخت به مورد بررسی بودند (جدول ۴، شکل ۳).

از میان آغازگرهای فوق، رقم‌های تجاری درخت به اصفهان و ویدوجا تنها یک آلل اختصاصی متمایزکننده به ترتیب متعلق به مکان‌های ژنی NB103a (۱۳۷ جفت باز) و NH015a (۱۳۶ جفت باز) داشتند (جدول ۴). همچنین ژنوتیپ‌های امیدبخش اصفهان-۲، اصفهان-۳، بهتا و اصفهان-۵ به ترتیب ۱، ۴، ۷ و ۳ آلل متمایزکننده با استفاده از جفت آغازگرهای این تحقیق دارا بودند که نشانگر وجود جمعاً ۱۷ آلل از مجموع ۴۰ آلل به طور اختصاصی و ۷ آلل به طور مشترک برای تمایز دو رقم بود. براساس این الگوی باندی، تنها سه جفت آغازگر NH015a، CH04a12 و NB103a، قادر به تمایز رقم‌های اصفهان، ویدوجا و ژنوتیپ های امیدبخش اصفهان-۲، اصفهان-۳ و بهتا می‌باشند (جدول ۴، شکل ۳). در این بین، تنها یک جفت آغازگر تکمیلی نظیر CH01d08، CH05d04 و یا NH011b قادر به شناسایی و تمایز ژنوتیپ امیدبخش اصفهان -۵ است. همچنین نتایج تجزیه خوشه‌ای با استفاده از آغازگرهای مورد بررسی بیانگر تمایز کلیه رقم‌ها و ژنوتیپ‌های امیدبخش از یکدیگر بود. از سوی دیگر این نتایج نشان‌دهنده عدم قرارگیری رقم بهتا با رقم اصفهان در یک خوشه و همچنین قرارگیری ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۲ با رقم ویدوجا در یک خوشه بود (شکل ۴). این نتایج تا حدودی با نتایج ارزیابی‌های مورفولوژیک در انطباق بود، لیکن به‌نظر می‌رسد گروه-بندی انجام گرفته براساس نتایج مورفولوژیک، گروه-بندی واقعی‌تری را نسبت به گروه‌بندی انجام گرفته براساس نتایج مولکولی با توجه به منشأ و خصوصیات عمومی درخت ارائه داده است.




شکل ۴. تجزیه خوشه‌ای رقم‌های تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش درخت به مورد بررسی درخت به براساس اطلاعات الگوهای باندی تکثیر شده مربوط به توالی‌های تکراری ساده با استفاده از ضریب تشابه نی (Nei, 1973) و روش UPGMA

Figure 4. Cluster analysis of commercial cultivars and promising genotypes of evaluated quinces based on banding profile obtained from SSR primers, analyzed by Nei (1973) and using UPGMA method

نتایج ارزیابی‌های فوق نشانگر توان هر دو گروه نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی توالی‌های ساده تکراری در شناسایی و تمایز رقم‌های تجاری و امیدبخش موجود درخت به است. براین اساس، رقم به اصفهان براساس عادت رشد درخت و شاخه و فرم میوه، رقم ویدوجا براساس فرم درخت، مواج بودن حاشیه برگ و رنگ شکوفه و زمان‌گلدهی و ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۲ براساس صفت فرم میوه، ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۳ براساس صفت فاصله جوانه از شاخه، ژنوتیپ امیدبخش بهتا براساس گردن بزرگ میوه، شکل و رنگ شکوفه و در نهایت ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۵ براساس صفت رنگ شاخص سبزقهوه‌ای شاخه‌های یکساله قابل تمایز می‌باشند. علاوه بر صفات فوق، بررسی‌های باغبانی رقم‌های تجاری و امیدبخش فوق منجر به اضافه شدن صفات تکمیلی و تجربی خاص رقم، به مجموعه صفات فوق می‌گردد. به عنوان مثال در رقم به اصفهان، تراکم کم اسپورها در برخی از نقاط بازوهای درخت و تجمع آنها در مکان‌های ابتدایی ازسرگیری رشد سالیانه، فرم گرد و مشخص گردن در میوه از صفات متمایزکننده این رقم است. در رقم ویدوجا، شکل مجنون (Pendulate) درخت در فصل تابستان که به دلیل عدم سال‌آوری و یا سال‌آوری اندک آن، هرساله در تابستان تکرار می‌گردد، همراه با صفات متمایزکننده ذکر شده در جدول ۲، به‌راحتی می‌تواند برای تمایز این رقم مورد استفاده قرار گیرد. همچنین میوه رقم به اصفهان و ویدوجا اندکی واجد گسی (Astringency) است، در حالی که در بین رقم‌های فوق ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۲ دارای بهترین مزه میوه بوده و می‌تواند با توجه به بافت آبدار میوه، به راحتی مصرف تازه‌خوری داشته باشد، که در کنار فرم گلابی شکل میوه به خوبی سبب تفکیک و تمایز رقم می‌گردد. رقم اصفهان-۳ علاوه بر صفات ذکر شده، براساس اندازه و شکل برگ و پاکوتاهی درخت و مزه گس میوه و تحمل درخت به تنش‌های محیطی که ناشی از میزان بسیاربالای فنل در برگ‌ها و میوه‌های این رقم است، قابل تمایز است. ژنوتیپ امیدبخش بهتا براساس گردن بسیار بزرگ میوه، شباهت قابل توجه عادت رشد درخت به رقم اصفهان با این تفاوت که اسپورهای شکوفه‌ده در تمامی طول بازو پراکنش دارد قابل شناسایی است. در رابطه با ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۵، رنگ بسیار شاخص سبزقهوه‌ای شاخه یکساله، نه تنها در بین رقم‌های تجاری و امیدبخش، بلکه در بین ژنوتیپ‌های مناطق مختلف کشور نیز به راحتی سبب تمایز این رقم می‌گردد. در کنار صفات تجربی فوق، در بین نشانگرهای مولکولی نیز آغازگرهای CH04a12، CH05d04 و Ch02b10 بیش‌ترین قدرت تمایز را داشتند و بر این اساس جمعاً سه جفت آغازگر NH015a، CH04a12 و NB103a همراه با یکی از جفت آغازگرهای CH01d08، CH05d04 و یا NH011b قادر به تمایز همگی رقم‌های تجاری و ژنوتیپ امیدبخش مورد بررسی بودند. از سوی دیگر با توجه به وجود ژنوتیپ‌های برتر دیگری به‌ویژه در توده بذری مناطق مختلف شمال‌غرب کشور، لازم است روند تعیین نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی آنها به موازات یا قبل از معرفی نهایی رقم مورد بررسی قرار گرفته و تعیین گردد. در این بین استفاده از آغازگر

توالی‌های ساده تکراری نه تنها در ابتدای بررسی ژنوتیپ‌ها به منظور جلوگیری از ارزیابی ژنوتیپ‌های تکراری مفید است، بلکه در صورت وجود ارزیابی‌های دقیق و قابل اعتماد از نظر موارد تکنیکی مرتبط، می‌تواند در انتها به عنوان شاخص‌های مولکولی متمایزکننده رقم‌ها، مورد استفاده قرار گیرد. براساس تجربه حاصله، امیدبخش‌ترین ژنوتیپ‌های درخت به جهت ورود به چرخه ژنوتیپ های امیدبخش و معرفی نهایی به عنوان رقم جدید در ژنوتیپ‌های شمال غرب کشور مشاهده می‌شود که علاوه بر تحمل بالا به کلروز آهن، دارای طعم خوب بوده و از خاصیت انبارمانی بالای نیز برخوردارند.

## نتیجه‌گیری کلی

دوگروه نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی توالی‌های ساده تکراری در شناسایی و تمایز رقم‌های تجاری و امیدبخش موجود درخت به توانستند به طور مؤثری اقدام به تفکیک رقم‌ها نمایند. براین اساس، رقم به اصفهان براساس عادت رشد درخت و شاخه و فرم میوه، رقم ویدوجا براساس فرم درخت، مواج بودن حاشیه برگ و رنگ شکوفه و زمان‌گلدهی و ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۲ براساس صفت فرم میوه، ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۳ براساس صفت فاصله جوانه از شاخه، ژنوتیپ امیدبخش بهتا براساس گردن بزرگ میوه، شکل و رنگ شکوفه و در نهایت ژنوتیپ امیدبخش اصفهان-۵ براساس صفت رنگ شاخص سبزقهوه‌ای شاخه‌های یکساله قابل تمایز بودند. در بین نشانگرهای مولکولی نیز آغازگرهای CH04a12، CH05d04 و Ch02b10 بیش‌ترین قدرت تمایز را داشتند و بر این اساس جمعاً سه جفت آغازگر NH015a، CH04a12 و NB103a همراه با یکی از جفت آغازگرهای CH01d08، CH05d04 و یا NH011b قادر به تمایز همگی رقم‌های تجاری و ژنوتیپ‌های امیدبخش درخت به کشور بودند.

## REFERENCES


1. Abdollahi, H. (2019). A review on history, domestication and germplasm collections of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in the world. *Genetic Resources and Crop Evolution* 66, 1041-1058.
2. Abdollahi, H. (2021). Quince. In: D. Mandal, U. Wermund, L. Phavaphutanon, R. Cronje (Eds), *Temperate fruits; production, processing, and marketing*. (pp. 183-246.) CRC Press.
3. Abdollahi, H., Alipour, M., Khoramdel Azad, M., Mehrabipour, S., Ghasemi, A., Adli, M., Atashkar, D. & Akbari, M. (2011). Establishment of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) germplasm collection from various regions of Iran. *Acta Horticulturae*, 976, 199-203.
4. Abdollahi, H., Ghasemi, A. & Mehrabipour, S. (2010). Interaction effects of rootstock and genotype on tolerance to iron deficiency chlorosis in some quince (*Cydonia oblonga* mill.) genotypes from central regions of Iran. *Seed and Plant Journal*, 26-1, 1-14 (in Farsi).
5. Ahmadi, S., Alipour, M., Abdollahi, H. & Atashkar, D. (2013). Comparison of efficiency of indices for fire blight susceptibility evaluation in quince (*Cydonia oblonga* Mill.) in orchard condition. *Seed and Plant Journal* 29-1, 331-347.(in Farsi).
6. Alipour, M., Abdollahi, H., Abdousi, V., Ghasemi, A. A. Adli, M. & Mohamadi, M. (2014). Evaluation of vegetative and reproductive characteristics and distinctness of some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from different regions of Iran. *Seed and Plant Journal*, 30-1, 507-529. (in Farsi).
7. Amirahmadi, Z., Abdollahi, H. & Ayyari, M. (2017). Variations in flavonoid compounds of the leaves and fruits of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes from northern regions of Iran. *Iranian Journal of Horticultural Science*48, 329-337. (in Farsi).
8. Bell, L. R. & Leitao, M. J. (2011). *Cydonia*. In: K. Chittaranjan, (Ed.). *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. (pp. 1-16). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
9. FAO. (2017). Food and Agriculture Organization Production Yearbook. FAO Publication, Rome, Italy.
10. Gianfranceschi, L., Seglias, N., Tarchini, R., Komjanc, M. & Gessler, C. (1998). Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theoretical and Applied Genetics*, 96, 1069-1076.
11. Guilford, P., Prakash, S., Zhu, J. M., Rikkerink, E., Gardiner, S., Bassett, H. & Forster, R. (1997). Microsatellites in *Malus domestica* (apple) abundance, polymorphism and cultivar identification. *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 249-254.
12. Hokanson, S. C., Lamboy, W. F., Szewc-McFadden, A. K. & McFerson, J. R. (2001). Microsatellite (SSR) variation in a collection of *Malus* (apple) species and hybrids. *Euphytica*, 118, 281-294.
13. Khandan, A., Abdollahi, H. & Hajnajari, H. (2011). *National Guidelines for Distinction, Uniformity and Stability examination in Quince* (*Cydonia oblonga* Mill.). Seed and Plant Certification and Registration Institute Publication. (in Farsi)

14. Khoramdel Azad, M., Abdollahi, H. & Taeb, M. (2008). Optimization of DNA extraction from Iranian quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes. In: Proceddings of the *2nd International Student Conference of Biotechnology*, 15-17 Nov, University of Tehran, Tehran, Iran, pp. 39.
15. Khoramdel Azad, M., Nasiri, J. & Abdollahi, H. (2013). Identification of genetic diversity of selected Iranian quince genotypes using SSRs derived from apple and pear. *Biochemical Genetics*, 51, 426-442.
16. Kimura, T., Yamamoto, T. & Ban, Y. (2005). *Identification of quince varieties using ssr markers developed from pear and apple*. International Union for the Protection of New Varieties of Plants.
17. Liebhard, R., Ganfranceschi, L. & Koller, B. (2002). Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Molecular Breeding*, 10, 217-241.
18. Manee, A. (1994). *Pear and quince, and their growing*. Iran Technical Publication Company. (inFarsi).
19. Mehrabipour, S., Abdollahi, H., Hassanzadeh, N. & Ghasemi, A. (2010). The role of some quince stock (*Cydonia oblonga*) genotypes in susceptibility to fire blight disease. *Applied Entomology and Phytopathology*, 78, 25-42. (inFarsi)
20. Naeimi, K., Abdollahi, H. & Miri, S. M. (2020). Evaluation of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) seedlings originated from North West of Iran and preliminary selection of promising genotypes. *Iranian Journal of Horticultural Science* 50, 967-981. (in Farsi).
21. Razavi, F., Arzani., F. & Vezvaee, A. (1999). Identification of local quince (*Cydonia oblonga* L.) genotypes in some parts of Isfahan province. *Seed and Plant Journal*, 15, 354-374. (in Farsi)
22. Saygili, H., Aysan, Y., Mirik, M. & Sahin, F. (2006) Severe outbreak of fire blight on quince in Turkey. *Acta Horticulturae*, 704, 51-54.
23. SPII. 2015. *Special Issues of the First Report on Seed and Plant Improvement Institute Released Cultivars.* Seed and Plant Improvement Institute Publication, Karaj, Iran. 91pp. (in Farsi)
24. Tahzibi Hagh, F., Abdollahi, H., Ghasemi, A. A. & Fathi, D. (2011). Vegetative and reproductive traits of some Iranian native pear (*Pyrus communis* L.) cultivars based on DUS descriptor. *Seed and Plant Journal*, 27-1, 37-55. (in Farsi)
25. UPOV. (2003).*Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability of quince* (*Cydonia* Mill. sensu stricto). International Union for the Protection of New Varieties of Plants.
26. Yamomoto, T., Kimura, T., Sawamura, Y., Kotobuki, K., Hayashi, T., Ban, Y. & Matsuta, N. (2001). SSRs isolated from apple can identify polymorphism and genetic diversity in pear. *Theoretical and Applied Genetics*, 102, 865-870.
27. Yamomoto, T., Kimura, T., Sawamura, Y., Manabe, T., Kotobuki, K., Hayashi, T., Ban, Y. & Matsuta, N. (2002a) Simple sequence repeats for genetic analysis of pear. *Euphytica*, 124, 129-137.
28. Yamomoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Ban, Y., Hayashi, T. & Matsuta, N. (2002b) Development of microsatellite markers in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Molecular Ecology Notes*, 2, 4-16.
29. Yamomoto, T., Kimura, T., Shoda, M., Imai, T., Saito, T., Sawamura, Y., Kotobuki, K., Hayashi, T. & Matsuta, N. (2002c) Genetic linkage maps constructed by using an interspecific cross between Japanese and European pears. *Theoretical and Applied Genetics*, 106, 9-18.
30. Yamomoto, T., Kimura, T., Soejima, J., Sanada, T., Hayashi, T. & Ban, Y. (2004) Identification of quince varieties using SSR markers developed from pear and apple. *Breeding Science*, 54, 239-244.