شناسایی ملکولی تعدادی از ارقام و پایه های سیب توسط نشانگر SSR

رومینا جهرمی شیرازی[1]، منصوره کشاورزی*[2]، محمد رضا نقوی[3]، سیما دامیار[2]، مهدی زهراوی[2]

[1]دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
[2]موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
[3]دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

چکیده

شناسایی ارقام و پایه های گیاهی نیازمند دسترسی به روش هایی است که دقیق و تکرار پذیر بوده و از شرایط محیطی متأثر نشوند. در این پژوهش کارایی نشانگر ملکولی ریزماهواره (SSR) در شناسایی ارقام و پایه های سیب، مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور از 5 جفت نشانگر منتخب ریزماهواره برای شناسایی 24 ژنوتیپ و 5 پایه بومی و خارجی سیب استفاده شد. بر اساس نتایج، در مجموع 52 آلل چند شکل در 5 مکان ژنی ریزماهواره (میانگین 10/4 آلل در هر مکان ژنی) شناسایی شد و میانگین محتوی اطلاعات چند شکلی (PIC) آنها 0/80 بود. نشانگرهای مورد استفاده در ژنوتیپ های لبنانی تابستانه، گلاب دماوند، گلاب اصفهان، ملایر 8 و ملایر 9 نوارهای اختصاصی و در ژنوتیپ های بهاره اراک، شمیرانی، لبنانی تابستانه، دماوند B_1، گلاب رسمی، گلاب دماوند، گلاب صحنه، ملایر 6، ملایر 8، ملایر 9، شفیع آبادی چالوس و گلاب پائیزه الگوی نواربندی اختصاصی ایجاد کردند. با استفاده از این نشانگرها، 12 آلل اختصاصی واضح و تکرار پذیر در 5 پایه مورد بررسی، شناسایی شد. نتایج، بیانگر کارایی بالای نشانگر ریزماهواره در شناسایی ارقام و پایه های سیب است.

کلمات کلیدی: *سیب، نشانگر ریزماهواره، شناسایی رقم و پایه*

* نویسنده مسئول: منصوره کشاورزی تلفن: 09122640046 Email :mansureh_1343@yahoo.com

مقدمه

سیب (*Malus* × *domestica* Borkh) از تیره گیاهشناسی Rosaceae، یکی از مهمترین و اقتصادی ترین درختان میوه مناطق معتدله و سردسیری است که تولید جهانی آن در سال 2008 بیش از 69 میلیون تن بوده است (FAO, 2008). کشور ایران با سطح زیر کشت 160 هزار هکتار و تولید بیش از 2 میلیون تن، یکی از مناطق مهم تولید سیب دنیا است که با در اختیار داشتن 2/8 درصد سطح زیر کشت جهان، مقام چهارم سطح کشت سیب جهان را به خود اختصاص داده است. سیب به دلیل گرده افشانی باز، جهش های رویشی طبیعی و همچنین دورگه گیریهای کنترل شده دارای تنوع بسیار چشمگیری در سطح ارقام تجاری یا غیر تجاری است(Goulao *et al*., 2001).

تا چند سال اخیر تمایز ارقام درختان میوه تنها بر پایه ویژگی های مورفولوژیک درخت و میوه بود (Sansavini, 1998) که نتایج آن در بسیاری از موارد، به دلیل تأثیر پذیری نشانگرهای مورفولوژیک از شرایط محیطی، غیر قطعی است (Vinatzer *et al*., 1999). همچنین، بسیاری از ویژگی های مورفولوژیک فقط در مرحله بلوغ درخت یا پس از میوه دهی قابل رویت هستند (Weeden and Lamb, 1985). به همین دلیل، استفاده از نشانگرهای ملکولی در کنار نشانگرهای مورفولوژیک می تواند موجب شناسایی دقیق تر ارقام و پایه ها در هر مرحله ای از رشد، شناسه قابل استنادی برای آنها ایجاد کند. شناسه های ملکولی می توانند در ثبت رقم، حمایت از حقوق بهنژادگران، انتخاب رقم صحیح در بهنژادی و کنترل هویت ارقام و پایه های مورد استفاده در احداث و توسعه باغ ها استفاده شوند. تا کنون نشانگرهای ملکولی متعددی مانند RGA، RAPD، AFLP، RFLP و SSR در سیب مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این نشانگرها در کاوش ژنوم جنس مالوس مانند مطالعات شجره ای، تعیین قرابت ژنتیکی و ترسیم نقشه ژنتیکی (Kenis and Keulemans, 2004; Haley and Knott, 1992; Conner *et al*., 1998)، تهیه نقشه ژن های مقاومت به آفات و بیماریها (Durel *et al*., 2003; Patocchi *et al*., 2005; Calenge *et al*., 2004; Evans and James, 2003)، جداسازی و تعیین توالی آنالوگ های ژن های مقاومت به بیماری ها (Calenge *et al*., 2005) و شناسایی ارقام سیب بکار برده شده‌اند (Hokanson *et al*., 1997; Gianfranceschi *et al*., 1998; Liebhard *et al*., 2002). از این میان، نشانگر ریزماهواره به عنوان معتبرترین و کاربردی ترین نشانگر بسرعت در کاوش ژنومی جنس سیب در حال گسترش است و تاکنون توالی بیش از 200 نشانگر ریزماهواره در این جنس شناسایی شده و به ثبت رسیده است (Guilford *et al*., 1997; Gianfranceschi *et al*., 1998; Liebhard

et al., 2002; Galli *et al*., 2005) با توجه به اهمیت شناسه دار کردن مواد گیاهی، هدف از این پژوهش بررسی امکان شناسایی ارقام، ژنوتیپ ها و پایه های سیب توسط نشانگر ریزماهواره بود.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

تعداد 24 ژنوتیپ و رقم سیب (شامل 21 ژنوتیپ بومی و 3 رقم خارجی) و 5 پایه (4 پایه خارجی و 1 پایه بومی) مورد بررسی قرار گرفتند. این مواد در کلکسیون ارقام سیب مؤسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر واقع در ایستگاه تحقیقات باغبانی در کمالشهر کرج نگهداری می شوند (جدول 1).

استخراج DNA و PCR

از برگ های جوان درختان در زمان رشد در اواسط بهار (اردیبهشت) یا اواخر پائیز (شهریور) نمونه برداری شد. برای استخراج DNA از روش های دلاپورتا و CTAB استفاده شد.

جدول 1- ژنوتیپ ها و پایه های سیب مورد استفاده.

کد	ژنوتیپ/پایه		کد	ژنوتیپ/پایه	
Code	**Genotype/rootstock**		**Code**	**Genotype/rootstock**	
1	پایه MM_{106}	MM_{106} rootstock	16	گلاب‌دکتراسماعیلی	Golab (Dr Esmaili)
2	پایه M_9	M_9 rootstock	17	گلاب دماوند	Golab (Damavand)
3	پایه MM_{111}	MM_{111} rooztock	18	گلاب پاییزه	Golab (paize)
4	پایه B_9	B_9 rootstock	19	گلاب کهنز	Golab (kohanz)
5	گلدن آسیایی	Asian golden	20	گلاب صحنه	Golab (sahne)
6	گلدن کانادایی	Canadian golden	21	گلاب اصفهان	Golab (Isfahan)
7	گلدن دلیشز	Golden delicious	22	پایه آزایش	Azayesh rootstock
8	شمیرانی تابستانه	Shemirani (tabestane)	23	ملایر 4	Malayer 4
9	شمیرانی	Shemirani	24	ملایر6	Malayer 6
10	لبنانی تابستانه	Lobnani (tabestane)	25	ملایر7	Malayer 7
11	دماوند B_1	Damavand B1	26	ملایر 8	Malayer 8
12	دماوند B_2	Damavand B2	27	ملایر 9	Malayer 9
13	دماوند B_3	Damavand B3	28	شفیع آبادی چالوس	Shafiabadi (chalus)
14	گلاب نعمتی	Golab (nemati)	29	شفیع‌آبادی‌یغمرخان	Shafiabadi (yaghmarkhan)
15	گلاب رسمی	Golab (rasmi)			

Table 1. Apple genotypes and rootstocks used in this study.

واکنش زنجیره ای پلیمراز توسط 5 جفت آغازگر منتخب چند شکل ریز ماهواره شامل (Guilford *et al.*, 05G8, 02B1 CH02B10, CH01H01, و 1997) (Gianfransechi *et al.*, 1998) CH02D12 انجام شد (جدول 2). مخلوط واکنش با حجم نهایی 20 میکرو لیتر حاوی مواد زیر (سیناژن) بود: 50 نانوگرم DNAی الگو، 10 mM Tris-HCl pH 9.0, 200 µM dNTPs, 5 mM $MgCl_2$, 50 mM KCl, 1 µM each primer, 1U *Taq* DNA polymerase . چرخه های حرارتی شامل واسرشتگی اولیه در 95 ºC به مدت 3 دقیقه بود که با 25 چرخه شامل: واسرشتگی در 95 ºC به مدت 0/5 دقیقه، اتصال و طویل شدن در 72 º C به مدت 1 دقیقه انجام شد و با بسط نهایی در 72 ºC به مدت 10 دقیقه خاتمه یافت. دمای بهینه اتصال برای هر آغازگر از روش شیب دمایی تعیین شد. محصولات پی سی آر در ژل آگارز (2٪) الکتروفورز و با اتیدیم بروماید رنگ آمیزی شدند و پس از اطمینان از موفقیت تکثیر DNA، با دستگاه توالی یاب DNA (الکتروفورز عمودی با ابعاد 380 × 300 × 0/4 میلی متر) و ژل پلی آکریل آمید 6٪ الکتروفورز شده و توسط نیترات نقره رنگ آمیزی شدند. سپس اندازه باند ها با استفاده از نشانگر ملکولی (100pb) تعیین و ماتریس صفر و یک بر اساس وجود یا عدم وجود باند تنظیم شد. کلیه آزمایش ها حداقل 3 بار تکرار شدند.

نتایج و بحث

مقایسه کیفیت DNAی استخراج شده از روش های دلاپورتا و CTAB نشان داد که روش CTAB بهتر بود. بر اساس نتایج PCR، دمای بهینه اتصال برای آغازگرهای CH01H01، 02B1، CH02D12، CH02B10 و 05G8 به ترتیب 56 ºC، 63/5 ºC، 60/5، 59/5 ºC و 56/5 ºC تعیین شد. کلیه نشانگرها، آلل های واضحی را تکثیرکردند که تعداد و اندازه آنها در همه تکرارها یکسان بود. سرانجام 52 آلل چند شکل در 5 مکان ژنی ریزماهواره (میانگین 10/4 آلل در هر مکان ژنی) شناسایی شدند. این مقادیر بسیار بالاتر از مقادیر گزارش شده توسط Goulao و همکاران (2001) است که توسط 13 آغازگر ریزماهواره تنها 84 آلل چند شکل (میانگین 6/5 آلل در هر مکان ژنی) در 41 رقم سیب شناسایی کردند. بالاترین تعداد آلل چند شکل توسط نشانگر 02B1 ایجاد شد و بیشترین میزان محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) نیز متعلق به همین نشانگر است. مقادیر PIC حاصل از این پژوهش بین 0/86-0/75 متغیر بود که نزدیک به مقادیر گزارش شده توسط Galli و همکاران (2005) در مطالعه 66 رقم سیب توسط 6 جفت آغازگر ریزماهواره است که معادل 0/72 است. هر چقدر PIC بزرگتر باشد، مبین وجود تعداد

آلل های زیاد و فراوانی آلل های چند شکل در مکان های ژنی مورد مطالعه در آن جمعیت است.

شناسایی آلل های اختصاصی در ارقام سیب

نشانگرهای CH02B10، 02B1 و CH01H01 پنج باند اختصاصی در ژنوتیپ های لبنانی تابستانه، گلاب دماوند، گلاب اصفهان، ملایر 8 و ملایر 9 ایجاد کردند (جدول 3، شکل 1). کلیه این باندها از وضوح و تکرار پذیری بالایی برخوردار بودند.

الگوی نواربندی اختصاصی در ژنوتیپ های سیب

با استفاده از نشانگرهای مورد استفاده، الگوی نواربندی اختصاصی برای ژنوتیپ های بهاره اراک، شمیرانی، لبنانی تابستانه، دماوند B1، گلاب رسمی، گلاب دماوند، گلاب صحنه، ملایر 6، ملایر 8، ملایر 9، شفیع ابادی چالوس و گلاب پائیزه به دست آمد (جدول 4، شکل 2) که همگی واضح و قابل تکرار بودند.

جدول 2- تعداد آلل های تکثیر شده و میزان محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) در هر جایگاه ریزماهواره.

نشانگر Marker	توالی آغازگر Primer sequence (5′-3′)	تعداد آلل No of alleles	PIC
05G8	F[1]: CGGCCATCGATTATCTTACTCT R: RGGATCAATGCACTGAAATAAACG	9	0.757
02B1	F: CCGTGATGACAAAGTGCATGA R: ATGAGTTTGATGCCCTTGGA	14	0.865
CHO2B10	F: CAAGGAAATCATCAAAGATTCAA R: CAAGTGGCTTCGGATAGTTG	10	0.845
CHO2D12	F: AACCAGATTTGCTTGCCATC R: GCTGGTGGTAAACGTGGTG	8	0.765
CHO1HO1	F: GAAAGACTTGCAGTGGGAGC R: GGAGTGGGTTTGAGAAGGTT-	11	0.785

R: reverse, F: forward

Table 2- Number of amplified alleles and the polymorphism information content (PIC) in each SSR locus.

جدول 3- اندازه (bp) آلل های اختصاصی در ژنوتیپ های مختلف سیب.

ژنوتیپ Genotype					
ملایر 9 Malayer9	ملایر8 Malayer8	گلاب اصفهان Golab (Isfahan)	گلاب دماوند Golab (damavand)	لبنانی تابستانه Lobnani (tabestane)	نشانگر Marker
–	–	–	–	156	CH02B10
–	–	298	–	–	02B1
183	139	–	135	–	CH01H01

Table 3- The size (bp) of specific alleles in different apple genotypes.

شناسایی آلل های اختصاصی در سیب

تعداد 12 آلل اختصاصی واضح و تکرار پذیر در 5 پایه مورد بررسی شناسایی شد که می توانند در شناسایی دقیق پایه ها مورد استفاده قرار گیرند (جدول 5 و شکل 3). با توجه به نتایج، هر نشانگر توانسته است حداقل یک باند اختصاصی در پایه ها ایجاد کند. توانایی نشانگر ریزماهواره در شناسایی و تفکیک پایه های سیب توسط Oraguzie و همکاران (2005) نیز گزارش شده است. وجود باندها و الگوی نواربندی اختصاصی به دست آمده در این پژوهش مبین کارایی نشانگر ریزماهواره در شناسایی ارقام و پایه های سیب است. کارایی این نشانگر در شناسایی ارقام سیب توسط Goulao و همکاران (2001)، Galli و همکاران (2005)، Liebhard و همکاران (2002)، Ginfranceschi و همکاران (1998) و Guilford و همکاران (1997) نیز گزارش شده است. در بررسی کارایی چندین نشانگر ملکولی در شناسایی ارقام سیب Goulao و همکاران (2001)، به این نتیجه رسیدند که نشانگر ریزماهواره بر سایر نشانگرها، از جمله AFLP و RAPD برتری دارد. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که می توان با تعداد اندکی نشانگر ریز ماهواره برای شناسایی قطعی و قابل تکرار ارقام و پایه های سیب اقدام کرد. بر خلاف مطالعات شجره ای که هر چه تعداد نشانگر بیشتر باشد، پوشش ژنومی کاملتری ایجاد می کند، نشانگری در شناسایی ارقام تواناتر است که با تعداد کمتری بتواند تفکیک لازم را ایجاد کند. در مطالعه ای، Gianfransechi و همکاران (1998) توانستند تنها با 2 جفت آغازگر ریزماهواره چندین رقم سیب را شناسایی کنند. Oraguzie و همکاران (2005) نیز در شناسایی 66 پایه تجاری و هم گروه سیب، فقط از 7 جفت آغازگر ریزماهواره بهره جستند. این نتایج نشان دهنده توانایی بالای ریزماهواره ها در شناسایی ارقام سیب است. اطلاعات انگشت نگاری ارقام توسط نشانگر ریزماهواره، می تواند نقش بسزایی در حفاظت ارقام/ژنوتیپ های بومی سیب داشته باشد. با توجه به دشواری شناسایی ارقام تنها بر پایه خصوصیات مورفولوژیک، نهالستان ها و باغداران مواجه با خطر اختلاط و اشتباه ارقام هستند. همچنین بدلیل طولانی بودن فاصله زمانی بین کاشت نهال تا باردهی و تعیین قطعی نوع رقم، باغداران در معرض خسارت جبران ناپذیری در اثر کاشت ارقام ناخواسته قرار دارند. بنابراین، به کارگیری روش های انگشت نگاری می تواند در کاهش خطر اختلاط ارقام و در مراحل ثبت ارقام و پایه های گیاهی بسیار سودمند باشد.

جدول 4- اندازه نوارهای موجود (bp) در الگوی نواربندی اختصاصی در ژنوتیپ های سیب.

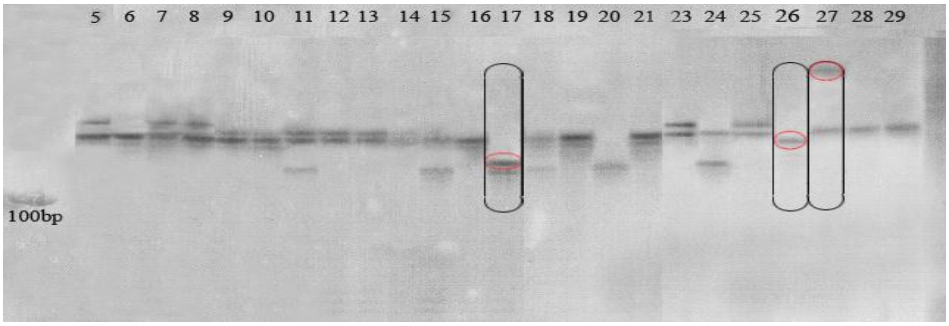
ژنوتیپ Genotype						
گلاب دماوند Golab (damavand)	گلاب رسمی Golab (rasmi)	دماوند B_1 Damavand B1	لبنانی تابستانه Lobnani (tabestane)	شمیرانی Shemirani	بهاره اراک Bahare arak	آغازگر Marker
–	134, 139	139, 159, 164	–	–	–	05G8
–	–	–	132, 136 156, 169	133, 136, 153, 159	136, 169	CH02B10
–	–	183, 186, 207	–	–	–	CH02D12
–	260, 250	–	–	–	–	02B1
135, 132	–	–	–	–	–	CH01H01
گلاب پاییزه Golab (paize)	شفیع آبادی چالوس Shafiabadi (chalus)	ملایر 9 Malayer9	ملایر 8 Malayer8	ملایر6 Malayer6	گلاب صحنه Golab (sahne)	
–	139, 164	136, 164	133, 146, 139	–	133, 136	05G8
–	–	–	135, 145	132	–	CH02B10
244, 153, 132,135	–	–	–	–	–	02B1
	–	142, 183	139	–	–	CH01H01

Table 4- The banding size in specific banding patterns of different apple genotypes.

جدول 5- اندازه (pb) آلل های اختصاصی در پایه های مختلف سیب.

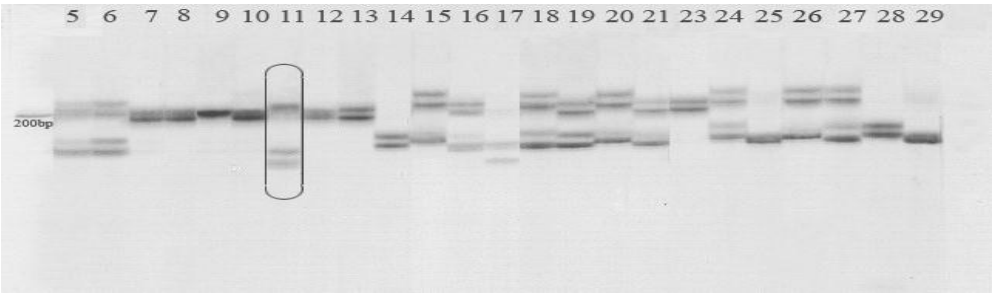
پایه Rootstock					نشانگر
آزایش Azayesh	B_9	MM_{111}	M_9	MM_{106}	Marker
182	177	-	-	-	05G8
139	-	-	136	132	CH02B10
-	198	-	200, 207	-	CH02D12
-	-	-	212	-	02B1
123	-	107, 405	-	-	CH01H01

Table 5- The size (bp) of specific alleles in different apple rootstocks.



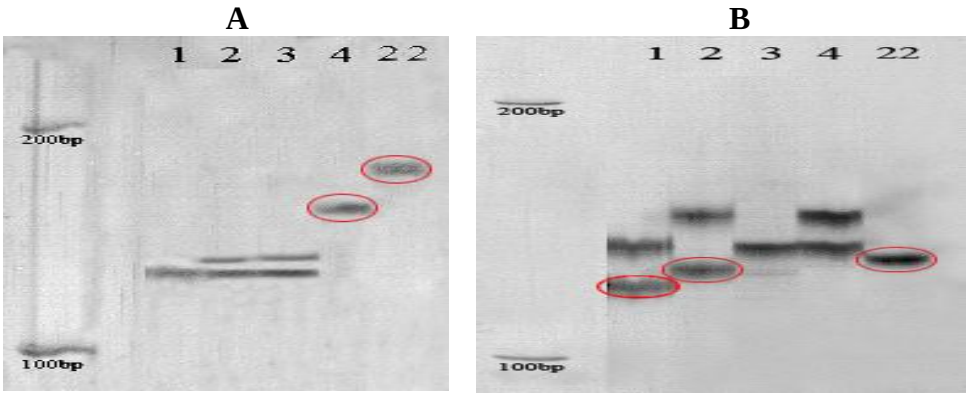
شکل 1- آلل های اختصاصی در مکان ژنی CH01H01 اعداد مربوط به شماره ژنوتیپ ها و اولین نوار سمت چپ، مارکر وزن ملکولی است.

Figure 1- Specific alleles in CH01H01 locus. The numbers correspond to the genotype codes and the first left lane to the ladder.



شکل 2- الگوی نواربندی اختصاصی در مکان ژنی CH02D12 اعداد مربوط به شماره ژنوتیپ ها و اولین نوار سمت چپ، مارکر وزن ملکولی است.

Figure 2- Specific alleles in CH02D12 locus. The numbers correspond to the genotype codes and the first left lane to the ladder.



شکل 3- آلل ها ی اختصاصی در پایه های سیب در مکـان ژنـی 05G8 (A) و CH02B10 (B) اعداد بالای ستون ها مربوط به شماره پایه و سمت چپ مارکر وزن ملکولی است.

Figure 3- Specific alleles of apple rootstocks in 05G8 (left) and CH02B10 (right) loci. The numbers correspond to the rootstock codes and the first left lane to the ladder.

منابع

1.Calenge F, Drouet D, Denancé C, Van de Weg WE, Brisset M-N, Paulin J-P, Durel C-E (2005) Identification of a major QTL together with several minor additive or epistatic QTLs for resistance to fire blight in apple in two related progenies. Theoretical and Applied Genetics 111:128-135.

2.Calenge F, Faure A, Goerre M, Gebhardt C, Van de Weg WE, Parisi L, Durel C-E (2004) Quantitative trait loci (QTL) analysis reveals both broad-spectrum and isolate-specific QTL for scab resistance in an apple progeny challenged with eight isolates of *Venturia inaequalis.* Phytopathology 94:370-379.

3.Conner PJ, Brown SK, Weeden NF (1998) Molecular-marker analysis of quantitative traits for growth and development in juvenile apple trees. Theoretical and Applied Genetics 96:1027-1035.

4.Durel CE, Parisi L, Laurens F, Van de Weg WE, Liebhard R, Jourjon MF (2003) Genetic analysis of partial resistance to race 6 of *Venturia inaequalis* in apple. Genome 46:224-234.

5.Evans KM, James CM (2003) Identification of SCAR markers linked to *Pl-w* mildew resistance in apple. Theoretical and Applied Genetics 106:1178-1183.

6.Galli Z, Halasz G, Kiss E, Haszky L (2005) Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. Horticultural Sciences 40:1974-1977.

7.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.

8.Goulao L, Cristina M (2001) Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus*×*damestica* Borkh) using microsatellite (SSR and ISSR) Markers. Euphytica 122: 81-89.

9.Guilford P, Sprakash Zhu JM, Rikkering E, Gardiner S, Bassett H, Forster R (1997) Microsatellite in *Malus* × *damestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. Theoretical and Applied Genetics 94:249-254.

10. Haley CS, Knott SA (1992) A simple regression model for interval mapping in line crosses. Heredity 69, 315- 324

11. Hokanson SC, Mcferson JR, Forsline PL, Lambody WF, Luby JJ, Aldwinckle Djangaliev AD (1997) Collecting and managing wild *Malus* germplasm in its center of diversity. Horticultural Sciences 32:173-176.

12. Kenis K, Keulemans J (2004) QTL analysis of growth characteristics in apple. Acta Horticulturae 663: 369-374.

13. Liebhard R, Gianfranceschi L, Koller B, Ryder CD, Tarchini R, Van de Weg E, Gessler C (2002) Development and characterization of 140 new microsatellite in apple (*Malus* × *domestica* Borkh). Molecular Breeding 10:217-241.

14. Oraguzie NC, Yamamoto T, Soejima J, Suzuki T, Desilva HN (2005) DNA fingerprinting of apple (*Malus* spp.) rootstocks using simple sequence repeats. Plant Breeding 124: 197-202.

15. Patocchi A, Walser M, Tartarini S, Broggini GAL, Gennari F, Sansavini S, Gessler C (2005) Identification by genome scanning approach of a microsatellite tightly associated with the apple scab resistance gene *Vm.* Genome 48:630-636.

16. Pereira-Lorenzo S, Ramos-Cabrer M, Diaz-Hernandez MB (2007) Evalution of genetic identy and variation of local apple cultivars (*Malus* × *domestica* Borkh)

from Spain using microsatellite markers. Genetic Research on Crop Evolution 54: 405-420.
17. Sansavini S (1998) Biotechnologie fruiticole: le frintiere delle recherché per il miglioramanto genetico e la propagazione delle piante da frutto. Frutticoltura 5: 75-81.
18. Vinatzer B, Pancalfi M, Sansavivi S (1999) Potenzialita limiti del fingerprinting nell identificazione varietale del pesco. Frutticoltura 4: 97-101.
19. Weeden NF, Lamb RC (1985) Identification of apple cultivars by isozyme phenotypes. Journal American Society of Horticultural Sciences 110: 509-515.

Molecular identification of apple cultivars/rootstocks using SSR markers

Gahromee Shirazee R.[1], Keshavarzi M.[*2], Naghavee M.R.[3], Damyar S.[2], Zahravee M.[2]

[1] Research and Science Branch, Islamic Azad Univ, Tehran
[2] Seed and Plant Improvement Instituter, Karaj
[3] College of Agriculture, Tehran Univ.

Abstract

Identification of plant cultivars and rootstocks, requires accurate and reproducible methods which not affected by environmental conditions. In this research, efficacy of SSR markers in identification of some apple genotypes and rootstocks was studied. For this purpose, 5 pairs of SSR markers were applied for identification of 24 and 5 Iranian and foreign apple genotypes and rootstocks, respectively. According to the results, 52 polymorphic alleles were proliferated in 5 microsatellite loci (mean 10.4 alleles per locus) and polymorphism information content (PIC) was 80%. The markers produced specific DNA bands in "Lobnani (tabestane)", "Golab (Damavand)", "Golab (Isfahan)", "Malyer 8" and "Malayer 9" genotypes and specific band patterns in "Bahare arak", "Shemirani", "Lobnani (tabestane) ", "Damavand B1", "Golabn (rasmi) ", "Golab (damavnd) ", "Golab (sahne) ", "Malayer 8", "Malayer 6", "Malayer 9", "Shafiabadi (chalus) and "Golab (paize) ". In rootstocks, 12 specific and reproducible alleles were identified. The results indicate the high efficacy of SSR markers for apple cultivar and rootstock identification.

Keywords: *Apple, cultivar, identification, microsatellite marker, rootstock.*

[*] Corresponding author:Mansureh Keshavarzi Email:mansureh_1343@yahoo.com, Tel: 0912 2640046