بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

استفاده از DNA کلروپلاستی در بررسی روابط فیلوژنتیک جنس پسته

پایان نامه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی

مریم زمانی

اساتید راهنما
دکتر بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی
دکتر مجید طالبی

۱۳۸۹

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی خانم مریم زمانی

تحت عنوان

استفاده از DNA کلروپلاستی در بررسی روابط فیلوژنتیک جنس پسته

در تاریخ ۸۹/۱۲/۸ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱ – استاد راهنمای پایان نامه	دکتر بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی
۲– استاد راهنمای پایان نامه	دکتر مجید طالبی
۳– استاد داور	دکتر مسعود بهار
۴ – استاد داور	دکتر احد یامچی
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر احمد ریاسی

تشکر و قدردانی

خداوند مهربان را شاکرم که مرا نیرو بخشید تا نگارش پایان نامه پیش رو را به اتمام برسانم. اکنون که توانستم مرحله دیگری از تحصیلات خود را با موفقیت به اتمام رسانم، بر خود لازم می دانم کمال تقدیر و تشکر خود را نثار کسانی کنم که در این مسیر پر فراز و نشیب لحظه ای از راهنمایی، پشتیبانی و تشویق من دریغ نکردند.

از خانواده عزیزم که از کودکی، شور دانستن و لذت کشف و جستجو را در من بیدار کردند، استقامت در تلاش را به من آموختند و در تمام این سال ها با فراهم کردن آرامش فکری و آسایش روحی، بسیاری دشواری ها را بر من آسان نمودند، با تمام وجود قدردانم.

از اساتید بردبارم، آقای دکتر طباطبایی و آقای دکتر طالبی، که تمام روزهایی که تحت نظارت ایشان مشغول به کار بودم سرشار از آموختن توامان علم و اخلاق بود، نهایت تشکر را دارم. از اساتید ارجمند، آقای دکتر بهار و آقای دکتر یامچی که زحمت باز خوانی و داوری این پایان نامه را متقبل شدند، کمال قدردانی را دارم. از سایر اساتید گروه بیوتکنولوژی، آقایان دکتر مفید، دکتر بهرام شریف نبی، دکتر آقافخر میرلوحی و دکتر قبادی و خانم دکتر نیلی که در محضرشان کسب علم نمودم، سپاسگزاری می نمایم.

از کارشناسان محترم آزمایشگاههای بیوتکنولوژی و بیماری شناسی، آقای مهندس محمدی و آقای مهندس اخوان صمیمانه تشکر می کنم. از پرسنل زحمتکش آزمایشگاههای بیوتکنولوژی و بیماری شناسی گیاهی قدردانی می نمایم.

در پایان از تمامی همکلاسی ها و دوستان بسیار خوبم در طول این مقطع تحصیلی، آقایان علویان، گل محمدی، عباسیان و عرب نژاد و خانم ها سلیمی، مهتاب درخشان، خاکسار، افاضل، محب محمدی، محبوبه کاظمی، حاجی احمدی، اسلام پناه، قنبری، پرورش، پاپ زن و محمدی نژاد سپاسگزارم. برای همگی آرزوی موفقیت روزافزون و شادکامی می کنم.

مریم زمانی

اسفند ۸۹

تقدیم به:

پدر بزرگوارم

به همت والائی او، که بزرگواریش تکیه گاهم شد تا ایستادن را بیاموزم که مهرش بی ریا و عشقش ستودنی است.

مادر مهربانم

سرچشمه بی ریای مهربانی، فداکاری و از خودگذشتگی او که صبر، پایداری، گذشت و فداکاری، چگونه زندگی کردن و ایستادگی در تنگناهای زندگی را به من آموخت.

فهرست مطالب

عنوان ..... **صفحه**

فهرست مطالب ..... هشت

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

۱-۱-اهمیت و اهداف: ۲

۱-۲- گیاهشناسی پسته : ۴

۱-۲-۱- پسته .*Pistacia vera* L : ۵

۱-۲-۲- گونه خنجوک .*Pistacia khinjuk* Stocks ۷

۱-۲-۳- گونه لنتیسکوس.*Pistacia lentiscus* L ۸

۱-۲-۴- گونه آتلانتیکا *Pistacia atlantica* ۹

۱-۲-۵-گونه اینتگریما .*Pistacia integerrima* Stewart ۹

۱-۲-۶- گونه پالائستینا .*Pistacia palaestina* Boiss ۱۰

۱-۳- تاریخچه و گسترش جغرافیایی پسته ۱۱

۱-۴- مطالعه روابط فیلوژنی پسته با استفاده از نشانگرهای مولکولی ۱۲

۱-۵- کلروپلاست ۱۴

۱-۶- ژنوم کلروپلاست ۱۵

۱-۷- فاصله بین ژنی *trnC-trnD* ۲۰

۱-۸- فاصله بین ژنی *atpB-rbcL* ۲۰

۱-۹- مطالعات فیلوژنتیکی کلروپلاست ۲۱

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱- جمع آوری و نگهداری نمونه های گیاهی ۲۴

۲-۲- شناسایی جایگاههای برشی در نمونه‌های پسته ۲۶

۲-۳- استخراج DNA ژنومی ۲۶

۲-۳-۱- استخراج DNA از برگ پسته ۲۷
۲-۳-۲- استخراج DNA از مغز پسته ۲۷
۲-۴- تعیین کمیت و کیفیت DNA با استفاده از ژل آگارز ۲۸
۲-۵- تکثیر قطعات انتخاب شده ۲۸
۲-۶- بررسی محصول PCR به وسیله الکتروفورز ژل آگارز ۲۹
۲-۷- همسانه‌سازی ۲۹
۲-۷-۱- واکنش اتصال(Ligation) ۲۹
۲-۷-۲- انتقال پلاسمیدهای نوترکیب به درون باکتری ۳۰
۲-۸- غربال‌گری سریع ۳۵
۲-۹- انجام واکنش PCR برای شناسایی همسانه‌های حاوی قطعه مورد نظر ۳۶
۲-۱۰- استخراج پلاسمید از همسانه‌های تائید شده با Colony PCR ۳۶
۲-۱۱- واکنش هضم (Digestion) ۳۸
۲-۱۲- کشت باکتری ها جهت توالی یابی ۳۸
۲-۱۳- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۳۸

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- استخراج DNA ژنومی ۴۰
۳-۲- شناسایی جایگاههای برشی در نمونه‌های پسته ۴۱
۳-۳- واکنش PCR ۴۱
۳-۴- همسانه‌سازی ۴۳
۳-۴-۱- واکنش اتصال ۴۳
۳-۴-۲- انتقال پلاسمیدهای نوترکیب به درون باکتری ۴۴
۳-۵- تأیید وجود قطعات موردنظر در پلاسمید و باکتری ۴۵
۳-۵-۱- غربال‌گری سریع ۴۵
۳-۵-۲- تأیید از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز(Colony PCR) ۴۵
۳-۵- ۳- تأیید از طریق برش آنزیمی ۴۷
۳-۶- نتایج حاصل از توالی‌یابی قطعات همسانه‌سازی شده ۴۹

۳-۷- تجزیه وتحلیل فیلوژنتیکی ۵۳
۳-۷-۱- مجموعه داده کل ۵۳
۳-۷-۲- مجموعه داده هر یک از فواصل ژنی..... ۵۸

فصل چهارم: نتیجه گیری و پیشنهاداا

۴-۱- نتیجه گیری کلی..... ۶۶.
۴-۲- پیشنهاد ها ۶۸
منابع ۶۹

فهرست اشکال

عنوان ..... **صفحه**

شکل۱-۱- نحوه پراکنش گونه‌های پسته در جهان ۵

شکل۱-۲- *Pistacia vera* L.: شاخه میوه دهنده پسته وحشی ۶

شکل۱-۳- *Pistacia khinjuk* Stocks.: شاخه میوه دهنده ۸

شکل۱-۴- *Pistacia atlantica* Desf.: شاخه میوه دهنده ۱۰

شکل۱-۵- *Pistacia palaestina* Boiss.: شاخه میوه دهنده ۸

شکل۱-۶- ساختار کلی ژنوم کلروپلاست *Nicotiana tabacum* ۱۷

شکل۱-۷- سازماندهی ناحیه *trnC-trnD* همراه با آغازگرهای طراحی شده برای گیاهان گلدار ۲۰

شکل۳-۱- استخراج DNA از برگ پسته ۴۱

شکل۳-۲- اسامی آغازگرها روی ناحیه *trnC-trnD* ۴۲

شکل۳-۳- نقوش الکتروفورزی محصولات PCR ۴۲

شکل۳-۴- ساختار ناقل pTZ57R/T ۴۳

شکل۳-۵- باکتری های نوترکیب *E.coli* MC1061 رشد یافته بر روی محیط کشت آمپی سیلین ۴۵

شکل۳-۶- غربال‌سازی همسانه‌ها با استفاده از تکنیک غربال‌گری سریع ۴۶

شکل۳-۷- نقوش الکتروفورزی محصولات Colony PCR ۴۶

شکل۳-۸- بررسی کیفیت استخراج پلاسمید ۴۷

شکل۳-۹- نقوش الکتروفورزی پلاسمیدهای هضم شده با آنزیم‌های برشی *EcoR*I و *Pst*I ۴۸

شکل۳-۱۰- محل برش آنزیم‌های *EcoR*I و *Pst*I روی قطعه حاصل از جفت آغازگر petN1-psbM2R ۴۸

شکل۳-۱۱- نقوش الکتروفورزی پلاسمیدهای هضم شده با آنزیم‌های برشی *EcoR*I و *Pst*I که واجد قطعه تکثیری توسط جفت آغازگر petN1-psbM2R می‌باشند ۴۹

شکل۳-۱۲- مقایسه توالی ناحیه *trnC-trnD* با توالی‌های موجود در GeneBank ۵۰

شکل۳-۱۳- مقایسه توالی ناحیه *atpB-rbcL* با توالی‌های موجود در GeneBank ۵۰

شکل۳-۱۴- همردیف سازی قسمتی از توالی ناحیه *trnC-trnD* ۵۱

شکل۳-۱۵- توالی‌های ریزماهواره‌ای در ناحیه *psbM-trnD* ۵۲

شکل۳-۱۶- توالی ریزماهواره‌ای در ناحیه *petN-psbM* ۵۳

شکل۳-۱۷- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته ایرانی و خارجی براساس ترکیب مجموع داده نواحی بین ژنی *trnC-trnD* و *atpB-rbcL*، با استفاده از ضریب تشابه Maximum composite Likelihood ۵۴
شکل۳-۱۸- دندروگرام شعاعی مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته ایرانی و خارجی براساس ترکیب مجموع داده نواحی بین ژنی *trnC-trnD* و *atpB-rbcL*..... ۵۶
شکل۳-۱۹- تقسیم‌بندی مورفولوژیکی گونه‌های پسته توسط زهری ۵۸
شکل۳-۲۰- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته ایرانی و خارجی براساس ترکیب مجموع داده ناحیه بین ژنی *atpB-rbcL*..... ۶۰
شکل۳-۲۱- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته ایرانی و خارجی براساس ترکیب مجموع داده نواحی بین ژنی *psbM-trnD*..... ۶۰
شکل۳-۲۲- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته براساس مجموعه داده ناحیه بین ژنی *trnC-petN*..... ۶۱
شکل۳-۲۳- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته براساس مجموعه داده ناحیه بین ژنی *petN-psbM*..... ۶۲
شکل۳-۲۴- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته براساس مجموعه داده ناحیه بین ژنی *trnC-psbM* ۶۳
شکل۳-۲۵- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته براساس مجموعه داده ناحیه بین ژنی *petN-trnD* ۶۳
شکل۳-۲۶- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته ایرانی و خارجی براساس ترکیب مجموع داده نواحی بین ژنی *trnC-petN* و *psbM-trnD*..... ۶۴
شکل۳-۲۷- دندروگرام مربوط به روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته ایرانی و خارجی براساس مجموعه داده ناحیه بین ژنی *trnC-trnD*..... ۶۵

فهرست جداول

عنوان ..... **صفحه**

جدول۲-۱- مشخصات ژنوتیپ‌های پسته مورد استفاده در بررسی روابط ژنتیکی ۲۵

جدول۲-۲- مواد ومقادیر موردنیاز در واکنش PCR ۲۸

جدول۲-۳- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده ۲۹

جدول۲-۴- مواد لازم و مقدار هر یک از آنها برای واکنش اتصال ۳۰

جدول۲-۵- مواد لازم جهت تهیه بافر SOC ۳۳

جدول۲-۶- مواد و مقادیر مورد نیاز در Colony PCR ۳۶

جدول۲-۷- مواد ومقادیر لازم برای واکنش برش آنزیمی ۳۸

جدول۳-۱- مشخصات توالی‌ها ۵۱

جدول۳-۲- تعداد اختلافات تک نوکلئوتیدی بین ژنوتیپ‌های پسته مورد مطالعه ۵۷

چکیده

پسته یکی از گیاهان باغی مهم و اقتصادی است که تولید آن در کشور سابقه تاریخی و طولانی دارد. با توجه به معرفی ایران به عنوان یکی از مراکز تنوع و پیدایش این گیاه و اهمیت اقتصادی آن، همچنین ابهاماتی که در مورد موقعیت دقیق برخی ژنوتیپ‌های وحشی پسته ایران و نقش آنها در روند تکاملی گونه‌های جنس پسته وجود دارد، تعیین روابط خویشاوندی ژنوتیپ‌های مختلف پسته ضروری به نظر می رسد تا بتوان از این اطلاعات در تصمیم گیری برای برنامه‌های اصلاحی پسته استفاده کرد. ژنوم کلروپلاستی به دلیل حفاظت شدگی در اندازه، ساختار و محتوای ژنی برای بررسی روندهای تکاملی در سطوح مختلف تاکسونومیکی مناسب می‌باشد. بنابراین در این پژوهش به منظور بررسی روابط تکاملی و خویشاوندی گونه‌های پسته ایران، از دو ناحیه غیرکد شونده کلروپلاستی *trnC-trnD* و *atpB-rbcL* استفاده گردید. نواحی کلروپلاستی مورد بررسی با جفت آغازگرهای اختصاصی تکثیر گردید و محصولات PCR همسانه‌سازی و توالی‌یابی شدند. در بررسی ناحیه *trnC-trnD*، سه ناحیه ریزماهواره‌ای شناسایی شد که طراحی آغازگر از نواحی اطراف آن می‌تواند منجر به معرفی نشانگر ریزماهواره کلروپلاستی در گونه‌های پسته گردد. براساس مجموعه داده حاصل از دو ناحیه *trnC-trnD* و *atpB-rbcL*، ژنوتیپ‌های وحشی جنس پسته از گونه *P.vera* تفکیک شدند و ارقام اهلی ایرانی ، سوریه‌ای، آمریکایی و ترکیه‌ای در یک گروه قرار گرفتند. ارتباط نزدیک ژنوتیپ‌های اهلی خارجی با ارقام تجاری ایرانی و همچنین خویشاوندی ژنتیکی نزدیک آنها به ژنوتیپ وحشی سرخس در دندروگرام به دست آمده، علاوه بر تأیید سرخس به عنوان یک ژنوتیپ تأثیرگذار در روند تکاملی پسته‌های اهلی، فرضیه معرفی ایران به عنوان یکی از مراکز تنوع پسته و خاستگاه احتمالی این گیاه را تقویت می‌نماید. در این تحقیق، ژنوتیپ بنه به پسته خنجوک ارتباط ژنتیکی نزدیک‌تری نسبت به *P.vera* نشان داد. نتایج به دست آمده نشان داد که ناحیه *trnC-trnD* توانایی بیشتری در تفکیک گونه‌های پسته از یکدیگر نسبت به ناحیه *atpB-rbcL* دارد و می‌توان از آن برای تعیین روابط خویشاوندی گونه‌های پسته استفاده کرد.

کلمات کلیدی: پسته، ***P. vera***، فیلوژنی، کلروپلاست، ***trnC-trnD*** ***atpB-rbcL***

فصل اول

مقدمه

۱-۱-اهمیت و اهداف

پسته بعنوان یکی از مهمترین محصولات باغی و اقلام صادراتی کشور به لحاظ ارزآوری، از اهمیت اقتصادی وتجاری ویژه‌ای برخوردار است. اهمیت پسته نه تنها به عنوان منبع دائمی تهیه ارز، بلکه به لحاظ محدودیت مناطق پسته‌خیز در دنیا است که امکان رقابت با این محصول خیلی کمتر از سایر محصولات کشاورزی می‌باشد و به جرأت می‌توان گفت که کیفیت پسته ایران در میان تعداد قلیل کشورهای تولید کننده پسته در جهان بی‌نظیر است[۹]. در حال حاضر ایران با صدور بیش از ۴۵۰ تن مغز پسته در سال، موقعیت ممتازی در مبادلات بازرگانی این محصول در دنیا دارد[۲۲و۴۶]. علی‌رغم سابقه طولانی کشت پسته در ایران، توسعه کشت این محصول از نیم قرن گذشته مورد توجه قرار گرفته است که از دلایل اصلی آن می‌توان به بالا رفتن ارزش اقتصادی پسته، صادرات آن و نیز آشنایی با خصوصیات مطلوب این گیاه از نظر سازگاری با شرایط نا مساعد محیطی از جمله شوری آب و خاک، مقاومت به خشکی و کم‌آبی اشاره نمود که بنا به دلایل مذکور پسته برای کشت در بسیاری از مناطق کویری و خشک قابل توصیه است[۶].

ایران دارای غنی‌ترین ذخایر ژنتیکی پسته در جهان می‌باشد و به این سبب تنوع و تعداد ارقام پسته ایران در جهان بی‌نظیر است[۹]. با این وجود ژنوتیپ‌های پسته ایرانی شجره نامشخصی داشته و احتمالاً برخی از آنها از نامهای مشابه در مناطق مختلف پسته‌خیز کشور برخوردارند و تعدادی نیز پس از انتقال به مناطق دیگر تغییر نام داده‌اند. در واقع اینگونه به نظر می‌رسد که اطلاعات دقیقی از تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های پسته ایرانی و میزان خویشاوندی و روابط ژنتیکی بین آنها در دست نیست[۷]. از سوی دیگر شناخت بهتر روابط فیلوژنی برای اصلاح کردن گیاهان و یا مطالعات ژنتیکی یک نیاز است[۴۲].

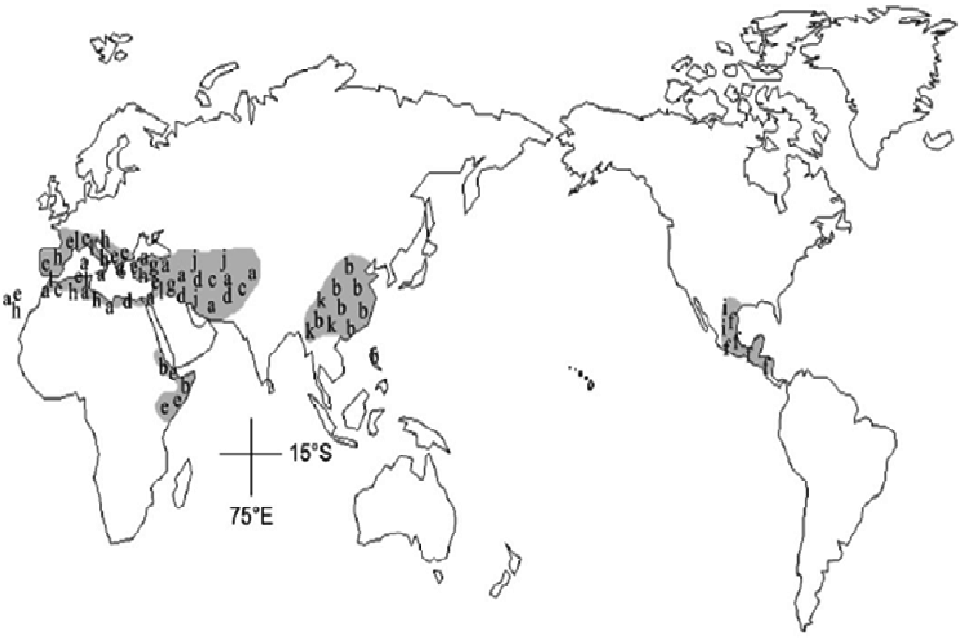
در مطالعات اولیه انجام شده بر روی تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های نگهداری شده در کلکسیون موسسه تحقیقات پسته کشور، از نشانگرهای RAPD و AFLP استفاده شد که علیرغم ارائه دسته‌بندیهای متفاوت، نتایج حاصله نشاندهنده شباهت ژنتیکی زیاد ژنوتیپ‌های ایرانی به یکدیگر است[۹]. بنابراین به منظور ارزیابی بهتر ژنوتیپ‌های پسته ایرانی از نشانگرهای SSR استفاده گردید. در اولین مطالعه با این نشانگرها، یکی از آغازگرها توانست گونه *Pistacia atlantica* subsp. *Mutica* (بنه) را به طور مشخصی از گونه *P.vera* جدا کند[۱]. در تحقیق دیگری براساس نتایج به دست آمده از شناسایی و کاربرد ریز ماهواره پسته خنجوک در تعیین تنوع ژنتیکی ارقام و گونه‌های پسته در ایران، پسته وحشی سرخس به عنوان یکی از ژنوتیپ‌های تأثیرگذار در روند تکاملی پسته پیشنهاد شد[۸]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر ژنوتیپ‌های اهلی و وحشی پسته به خوبی از یکدیگر جدا شده و در گروه‌هایی مجزا قرار گرفتند، درضمن ژنوتیپ‌های وحشی سرخس ارتباط نزدیکی را با انواع اهلی نشان دادند که مبین این واقعیت بود که احتمالاً ژنوتیپ‌های وحشی سرخس در روند تکاملی ژنوتیپ‌های اهلی تأثیرگذارند[۵]. بر این اساس و به منظور اطمینان بیشتر از این رابطه تکاملی نیاز به ژنومی است که علاوه بر حفاظت‌شدگی بیشتر، بهتر بتواند روند تکاملی این ژنوتیپ‌ها را تبیین کند.

ژنوم کلروپلاست حفاظت شده‌ترین ژنوم شناخته شده براساس اندازه، سازماندهی و توالی می‌باشد[۴۰]. اندازه ژنوم کوچک و عناصر تکراری در آن محدود است. همچنین میزان جایگزینی نوکلئوتیدی در ژنوم کلروپلاست نسبتاً آهسته‌تر از ژنوم هسته‌ای می باشد که در نتیجه مورد مناسبی را برای مطالعه فیلوژنی گیاهان در عمیق ترین سطح تکامل مهیا می کند [۱۵و۵۸]. بنابراین بسیاری از مطالعات فیلوژنتیکی مولکولی صورت گرفته در مورد گیاهان گلدار بر اساس یک یا چند ژن از کلروپلاست، میتوکندری و یا ژن‌های هسته‌ای بوده است [۸]. بسیاری از مطالعات اولیه فیلوژنتیکی با استفاده از DNA کلروپلاستی گیاهان بر روی ژن‌های رمزکننده پروتئین مانند *rbcL* متمرکز بوده و برای روشن نمودن روابط فیلوژنتیکی در سطوح

بالای طبقه‌بندی طراحی شده بودند. سپس پتانسیل استفاده از نواحی غیرکدکننده ژنوم کلروپلاستی برای مطالعات سطوح پایین‌تر(بین جنسی، بین گونه‌ای و درون گونه‌ای) شناخته شد[۵۷]. نواحی غیرکدکننده مانند اینترون‌ها و فواصل بین ژنی اغلب تنوع بیشتری در هر جایگاه بازی نسبت به نواحی کدکننده دارند که احتمالاً به دلیل محدودیت عملکردی کمتر می‌باشد. در سیستماتیک نهاندانگان، کاربرد نواحی غیرکدکننده کلروپلاستی برای مطالعات فیلوژنتیکی در سطوح پایین به صورت رایج می‌باشد. تعداد زیادی از نواحی غیر کدکننده مختلف ژنوم کلروپلاستی در نهاندانگان بررسی شده است که تعدادی از آن‌ها تغییرپذیری بالایی را نشان دادند در حالی که بقیه تنوع کمتری داشتند[۲۰]. در نتیجه با توجه به مزایای استفاده از نواحی غیر کد کننده در مطالعات فیلوژنتیکی، در بررسی حاضر از دو ناحیه *trnC*-*trnD* و *atpB-rbcL* که میزان متوسطی از تنوع را نشان داده‌اند در مطالعه روابط فیلوژنی پسته‌های ایران استفاده شد.

۱- ۲- گیاه شناسی پسته

جنس پسته متعلق به خانواده Anacardiaceae از راسته Sapindales [۶]، عمدتاً یک جنس نیمه گرمسیری با درختان و درختچه‌های دو پایه بوده که با باد گرده افشانی می‌شوند. درکاملترین مطالعه تاکسونومیکی که بر اساس خصوصیات ظاهری میوه و برگ انجام شده است، جنس پسته به ۱۱ گونه در چهار بخش تقسیم شده است. بخش *Lentiscella*، که گونه های *P. mexicana* HBK و *P. texana* Swingle را دربرگرفته است. بخش *Eu-Lentiscus* که گونه های *P. lentiscus* L و *P.weinmannifolia* Poisson و *P. saportae* Burnat را شامل می شود. در بخش *Butmela* فقط گونه *P. atlantica* Desf قرار دارد و همچنین بخش *Eu-Terebinthus* شامل گونه های *P. vera* L، *P. khinjuk* Stocks, *P. terebinthus* L، *P.palaestina* Boiss و *P. chinensis* Bge می باشد[۶۵]. گونه‌های پسته به صورت نا پیوسته در نیمکره شمالی پراکنده شده‌اند(شکل۱-۱) به این صورت که دو گونه *P. chinensis* و *P.weinmannifolia* در آسیای شرقی وگونه های *P. mexicana* و *P. texana* از جنوب غربی ایالت متحده آمریکا تا آمریکای مرکزی و سایر گونه ها از حوزه مدیترانه تا آسیای مرکزی توزیع شده اند[۶۱]. سه گونه *P. vera* و *P. khinjuk*، *P. atlantica* Subsp. *mutica* در ایران پراکنش گسترده ای دارند[۲۲].



شکل۱-۱-نحوه پراکنش گونه‌های پسته در جهان[۶۱].

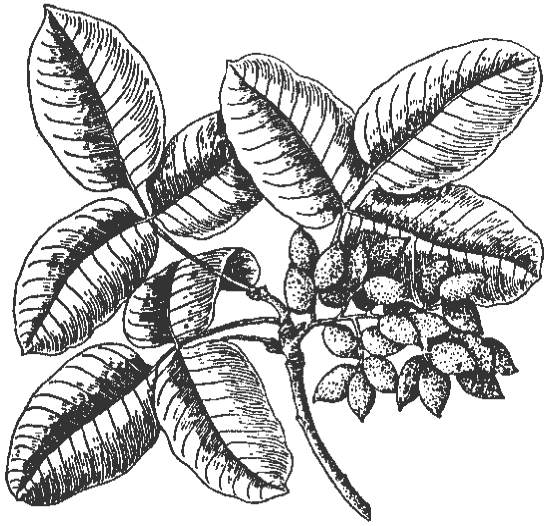
a = *P.atlantica*, b = *P.chinensis*, c = *P.integerrima*, d = *P.khinjuk*, e = *P.lentiscus*, f = *P.mexicana*, g = *P.palaestina*, h = *P.terebintus*, i = *P.texana*, j = *P.vera*, k = *P.weinmannifolia*, l = *P.saportae*.

۱-۲-۱- پسته *Pistacia vera* L.

پژوهشگران معتقدند که گونه *P.vera* قدیمی ترین گونه پسته است که سایر گونه ها از آن منشأ گرفته اند[۵]. درختی خزان‌کننده، خشکی دوست، با ارتفاع بیش از هشت تا ۱۰ متر ، برگ ها چرم مانند، تک شانه ای، یک تا سه برگچه ای با اشکال مستطیلی، تخم مرغی و یا گرد می باشند و به شکل‌های اهلی و وحشی وجود دارد. (شکل ۱-۲)[۶۵]. در میان گونه های پسته تنها میوه های این گونه به اندازه کافی درشت بوده و دارای ارزش اقتصادی می باشد[۶]. میوه ها اشکال متنوعی از مستطیلی کشیده تا تخم مرغی پهن با ضخامت متوسط و پوست استخوانی دارند که هنگام رسیدن، متناوباً از طول شکاف برمی دارند[۵۴]. تعداد کروموزوم های پسته اهلی ۲n= ۳۰ [زهری، ۱۹۵۲] و یا ۲n = ۳۲ [وایت هاوس ۱۹۵۷] می باشد.

منشأ این گونه آسیای مرکزی، مرز بین افغانستان، ترکمنستان و شمال شرقی ایران می باشد و در طی قرون از مبدأ اصلی خود در آسیای میانه به حوزه مدیترانه گسترش یافته است. منطقه انتشار آن در ایران از

نواحی شمال غربی تا جنوب شرقی منطقه سرخس در استان خراسان ادامه دارد[۵]. این گونـه را مـی تـوان به عنوان مادر پسته‌های ایران و سایر پسته‌های اهلی دنیا قلمداد کرد و در مناطق مختلف ایران دارای تنـوع ژنتیکی و فنوتیپی بسیار زیادی است[۶]. در زیر به برخی از ارقام مهم تجارتی این گونه اشاره شده است.



شکل۱-۲-*Pistacia vera* L.: شاخه میوه دهنده پسته وحشی[۶۵].

الف- پسته‌های اهلی *P.vera*

۱- رقم اوحدی

یکی از مهمترین وگسترده‌ترین ارقام تجاری پسته کشور، رقم اوحدی می‌باشـد.کشـت و تولیـد ایـن پسته در طول ۳۰ سال اخیر سیر صعودی داشته و هم‌اکنون تقریباً بیش از ۶۰ تا ۷۰ درصد از باغات کشت پسته را در رفسنجان به خود اختصاص می دهد[۲۲]. ارتفاع درختان پسـته اوحـدی بـه سـه متـر مـی رسـد، دارای غالبیت انتهایی بسیار بالا است و بیشتر برگها سه برگچه ای هستند. این رقم قـدرت رشـد متوسـط و تاج گسترده دارد[۵].