بسم الله الرحمن الرحیم
الحمد لله رب العالمین الرحمن الرحیم مالک یوم الدین
اهدنا الصراط المستقیم صراط الذین انعمت علیهم غیر المغضوب علیهم ولا الضالین

دانشکده کشاورزی

مرکز تهران شرق

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد

رشته:بیوتکنولوژی

گروه: کشاورزی

عنوان

شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژنهای تحمل به تنش سرما در کلون های موتانت زردآلو با استفاده ازتکنیک مولکولی STS

مریم نژادحسن پاکدل

اساتید راهنما

دکتر ناصر بوذری **دکتر محمد طاهر حلاجیان**

استاد مشاور

دکتر محمدعلی ابراهیمی

اردیبهشت ۱۳۹۱

شماره: .....
تاریخ: .....
پیوست: .....

جمهوری اسلامی ایران
وزارت علوم تحقیقات و فناوری
مرکز تهران شرق

دانشگاه پیام نور
دانشگاه پیام نور استان تهران
واحد علوم تحقیقات تهران و استانها و واحد

صورتجلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

جلسه دفاع ازپایان نامه کارشناسی ارشد خانم مریم نژاد حسن پاکدل

دانشجوی مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی به شماره دانشجویی ۸۷۰۲۷۲۹۸۴

تحت عنوان:

"شناسایی نشانگرهای ملکولی پیوسته با ژن تحمل به تنش سرما در کلون های موتانت زردآلو با استفاده از تکنیک ملکولی STS"

جلسه دفاع با حضور داوران نامبرده ذیل در روز یکشنبه مورخ:۹۱/۲/۲۴ ساعت:۱۰-۹

در محل مرکز تهران شرق برگزار شد. پس از بررسی پایان‌نامه مذکور با نمره به عدد ۱۹/۰ به حروف نوزده صحیح و با درجه ارزشیابی عالی مورد قبول واقع شد ☑ نشد ☐

هیات داوران	نام و نام خانوادگی	مرتبه دانشگاهی	دانشگاه/ موسسه	امضاء
استاد راهنما	دکتر ناصر بوذری	استادیار	موسسه تحقیقات بذر و نهال	
استاد راهنمای همکار	دکتر محمد طاهر حلاجیان	مربی	پژوهشکده تحقیقات کشاورزی پزشکی و صنعتی پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای	
استاد مشاور	دکتر محمد علی ابراهیمی	استادیار	پیام نور	
استاد داور	دکتر غلامرضا بخشی خانیکی	استاد	پیام نور	
نماینده گروه/نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر غلامرضا بخشی خانیکی	استاد	پیام نور	

تهران ، خیابان کریمخان زند ،خیابان استاد نجات الهی ، خیابان شهید فلاح پور ، پلاک ۲۷ مرکز تهران شرق
تلفن : ۸۸۹۱۳۴۷۵
دورنگار: ۸۸۹۴۸۹۸۴
Tshargh.Tpnu.ac.ir
Tshargh@Tpnu.ac.ir

اینجانب مریم نژادحسن پاکدل دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی گواهی می نمایم چنانچه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته ام با نقل قول مستقیم یا غیر مستقیم منبع و ماخذ آن را نیزدر جای مناسب ذکر کرده ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تایید می نماید که مطالب مندرج در این پایان نامه (رساله) نتیجه تحقیقات خودش می باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

مریم نژادحسن پاکدل

۱۳۹۱/۲/۲٤

اینجانب مریم نژادحسن پاکدل دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸مقطع کارشناسی ارشد رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی گواهی می نمایم چنانچه بر اساس مطالب پایان نامه خود اقدام به انتشار مقاله ،کتاب، و... نمایم ضمن مطلع نمودن استاد راهنما، با نظر ایشان نسبت به نشر مقاله، کتاب، و... و به صورت مشترک و با ذکر نام استاد راهنما مبادرت نمایم.

مریم نژادحسن پاکدل

۱۳۹۱/۲/۲٤

کلیه حقوق مادی مترتب از نتایج مطالعات، آزمایشات و نوآوری ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه متعلق به دانشگاه پیام نور می باشد.

اردیبهشت ۱۳۹۱

تقدیم به پدر بزرگوارم که شمع هدایت او همواره

روشنگر راهم است

تقدیم به روح پاک مادرم

تقدیم به همسر مهربانم

و پسر عزیزم و دختر نازنینم

تشکر و قدر دانی:

حمد و سپاس خداوندی که رحمانیت و رحیمیت آن همه هستی را فرا گرفته ،هستی از او هست یافته است. شکرو سپاس آنکه توفیق قلم را به انسان عطا نموده واو رابا قلم کتابت آموخت.

بدون شک انجام این تحقیق بدون یاری اساتید بزرگوار از عهده اینجانب خارج بود بر خود واجب می دانم که از راهنمایی های ارزنده استاد محترم جناب آقای دکتر محمد طاهر حلاجیان که در تمامی مراحل اجرا و نگارش این پایان نامه زحمات فراوانی متحمل شده و مرا یاری و راهنمایی نمودند کمال تشکر را به جا آورم.از راهنمایی های دلسوزانه استاد علم و اخلاق جناب آقای دکتر ناصر بوذری که در امر تحقیق و مراحل مختلف پایان نامه با رهنمودهای ارزنده خویش رهگشای اینجانب بوده اند صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.از استاد مشاورمحترم جناب آقای دکتر محمد علی ابراهیمی صمیمانه تشکرمی کنم.از جناب آقای دکتر بخشی خانیکی که زحمت داوری پایان نامه بنده را به عهده داشته اند تشکر می نمایم.از آقای مهندس شهرام مشایخی به جهت راهنمایی ارزنده ومفید شان سپاسگزارم. از مدیر گروه محترم پژوهشکده کشاورزی هسته ای سازمان انرژی اتمی جناب آقای مهندس پیرولی تشکر و قدردانی می کنم.از سر کار خانم سپیده جمالی وسرکار خانم شیرین کلاهی کارشناسان آزمایشگاه مولکولی پژوهشکده کشاورزی کرج نیز به جهت همکاری در انجام آزمایشات صمیمانه سپاس گزارم. از خانم ها ناظمی و نورالدینی و سایر دوستان خوبم و نیز از آقای مهندس رضوی و آقای مهندس عسکری کارشناسان آزمایشگاه و نیز از آقای محمد امیری و تمامی کارکنان محترم بخش کشاورزی هسته ای سازمان انرژی اتمی که هر کدام به نحوی مرا یاری نمودند کمال تشکر را دارم.

از پدر عزیزم و مرحوم مادرم که در امر تحصیل همواره مشوق اینجانب بوده اند و از همسر مهربانم ودو گل زندگیم که در طول مدت تدوین این پایان نامه با صبرو شکیبایی فراوان و با فراهم آوردن محیطی آرام و مناسب ادامه کار را برایم امکان پذیر ساختند صمیمانه سپاس گزاری و قدردانی می نمایم. از خواهران و برادرانم و نیز از خانواده همسرم که همراه و مشوقم بودند کمال تشکر را دارم.

چکیده :

افزایش مقاومت به سرما مهمترین موضوع اصلاحی زردآلو می باشد. این پژوهش به منظور بررسی تحمل به تنش سرما، در نمونه های موتانت زردآلو به همراه رقم والدی آنها (رقم شاهرودی) به عنوان شاهد و رقم تقریبا متحمل (جهانگیری) و چندین رقم نیمه متحمل و حساس دیگر با استفاده از تکنیک مولکولی مبتنی بر جایگاه نشانمند در توالی (STS) انجام پذیرفت. DNA از نمونه های برگ استخراج گردید.از دو جفت آغازگر اختصاصی برای بررسی چند شکلی ژنهای کنترل کننده صفت تحمل به سرما در زردآلو استفاده شد. آزمون PCR در سطح جمعیت انجام پذیرفت. سپس فرآورده های تکثیری بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد آشکار سازی شدند. نتایج ژل الکتروفورز و PCR تحقیقات مولکولی زالونسکایته و همکاران (۲۰۰۸) نتایج تحقیقات ما را تائید نمود. اندازه آللی جفت آغازگراول (COR47X1R1 وCOR47X1F1) از ۲۳۰ تا ۱۱۸۲ جفت باز متغیر بود، این جفت آغازگر ٦ نوع باند در جمعیت تکثیر کرد. این جفت آغازگر تنها در سه کلون موتانت (M60-5 ، M60-15 و M40-11) آللی با اندازه ۲۹۵ جفت باز ایجاد نمود که احتمال می رود این باند با ژن تحمل به سرما پیوسته باشد. همچنین جفت آغازگردوم (COR47X2R1 وCOR47X2F1) نیز از مقاله زالونسکایته و همکاران (۲۰۰۸) برگرفته شد. این جفت آغازگر چند شکلی خوبی بین ارقام حساس و متحمل وکلون های موتانت نشان داد و به نظر می رسد نشانگر مناسبی برای ارزیابی صفت تحمل به سرما در زردآلو باشد. این جفت آغازگر آلل های چند شکلی را در رقم تقریبا متحمل جهانگیری تکثیر کرد. در این رقم آلل هایی با طول های ۲۵۰، ۳۵۰،٦۳۲و ۱۱٦۷ جفت باز مشاهده شدند. در مقایسه با ارقام نیمه متحمل و حساس و کلون های موتانت دو آلل به طول های ٦۳۲و ۱۱٦۷ جفت باز با صفت تحمل به سرما پیوسته بودند. همچنین این جفت آغازگر در کلون موتانت (M40-11) ٤ آلل تکثیر کرد. در این کلون علاوه بر دو آلل به طول های ۲۵۰و۳۵۰ جفت باز دو آلل دیگر به طول های ۳۹٦ و۵۳۰ جفت باز تکثیر کرد که با صفت تحمل به سرما پیوسته بودند. همچنین این جفت آغازگر در کلون های موتانت M50-6 ، M50-4 و M50-2 علاو ه بر دو آلل با طول های ۲۵۰و۳۵۰ جفت باز آلل های دیگری با طول های ۵۸۹ ، ٤٦۵ و ٦٦۷ جفت باز تکثیر کرد که با صفت تحمل به سرما پیوسته بودند.

واژه های کلیدی: زردآلو، تحمل به سرما، PCR و تکنیک مولکولی STS

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
مقدمه	
مقدمه	۱
فصل اول : کلیات	
۱– ۱– زردآلو	۷
۱–۱– ۱– گیاه‌شناسی	۸
۱–۱–۲– ترکیب شیمیایی و فوائد تغذیه‌ای	۱۳
۱–۱–۳– خاک و آب‌وهوا	۱٤
۱–۱–٤– ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی	۱۵
۱–۲– تنظیم بیان ژن در سرمادرگیاهان تحت تنش	۱٦
۱–۲–۱– اثر تنش سرما	۱٦
۱–۲–۲– علامت دهی در تنش سرمایی	۱۷
۱–۲–۳– تنظیم از طریق نسخه برداری	۱۹
۱–۲–٤– تنظیم پس از نسخه برداری	۲۱
	۲۳

۱-۲-۵- تنظیم پس از ترجمه ای

۱-۳- تنوع ژنتیکی و ضرورت مطالعه آنها ۲٤

۱-۳-۱- روشهای بررسی تنوع ژنتیکی ۲٦

الف- مورفولوژیکی ۲٦

ب- سیتوژنتیکی ۲٦

ج- در سطح دی ان ای ۲٦

۱-۳-۲- نشانگرها ۲۷

۱-۳-۲-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ۲۷

۱-۳-۲-۲- نشانگرهای مولکولی ۲۸

۱-۳-۲-۳- نشانگرهای مبتنی بر PCR ۲۹

نشانگر های مبتنی بر نقاط نشانمند از ردیف اس. تی . اس[1] (STS) ۲۹

فصل دوم: مبانی نظری وپیشینه تحقیق

۲-تاریخچه اصلاح نباتات از طریق جهش ۳۲

۲-۱- جهش های ژنی ۳۲

۲-۲- تمهیدات لازم برای اصلاح از طریق جهش ۳۳

۳۳

[1] Sequence Tagged Site

۲-۳- انتخاب رقم، ماده جهش زا و دز مناسب

۲-٤- مقاومت به سرما ۳٤

فصل سوم : مواد و روشها

۳- مواد و روشها ٤۱

۳-۱- مواد ٤۱

۳-۱-۱- مواد گیاهی و آغازگر ٤۱

۳-۱-۲- استخراج DNA ٤۱

۳-۱-۳- تعیین غلظت و کیفیت DNA ٤٥

۳-۱-٤- ژل الکتروفورز ٤٦

۳-۱-٥- انجام واکنش PCR ٤۸

۳-۱-٦- الکتروفورز فرآورده های تکثیری ٥۱

فصل چهارم: نتایج و بحث

٤- نتایج ٥٥

٤- ۱- نتایج آزمایش بهینه سازی واکنش زنجیره ای پلیمراز ٥٥

٤-۲- کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ٥۷

٤-۳- آنالیز و بررسی مولکولی کلون های موتانت و ارقام والدینی و استاندارد با استفاده از ٦۰

تکنیک جایگاه های نشانمند در توالی (STS)

٤-٤- نتیجه گیری کلی ۷۰

پیشنهادات ۷۲

فصل پنجم: منابع و مآخذ

منابع و مآخذ ۷٤

چکیده انگلیسی ۸۰

فهرست جداول

صفحه

جدول۳-۱- مواد گیاهی (ارقام حساس= S، کلون های موتانت= M و ارقام تقریبا متحمل و نیمه متحمل=R)..... ٤٢

جدول۳-۲- سطح تحمل ارقام مطالعه شده در این تحقیق بر اساس داده های مورفولوژیکی..... ٤٣

جدول۳-۳- جفت آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق..... ٤٣

جدول٤-۱- دمای بهینه آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق..... ٥٩

فهرست اشکال

صفحه

شکل۱-۱- نقشه پراکنش تولید زردآلو جهان در سال ۲۰۰۵..... ۸

شکل ۳-۱- باغ زردالو کمال شهر کرج (محل نمونه برداری) ٤١

شکل۳-۲- دستگاه اسپکتروفوتومتر..... ٤٦

شکل۳-۳- ژل داک..... ٤٧

شکل۳-٤- هود PCR ٤٩

شکل۳-۵- دستگاه PCR..... ۵١

شکل۳-٦- دستگاه الکتروفورز ژل همراه با دستگاه تامین کننده جریان الکتریسیته.. ۵٢

شکل ٤-۱- تصویر DNA استخراج شده تعدادی از ژنوتیپ ها بر روی ژل آگارز..... ۵٧

شکل ٤-۲- تصویر ژل آگارزی فراورده های PCR حاصل از جفت آغازگر اختصاصی- COR 47X1R1 و COR47X1F1..... ۵٨

شکل٤-۳-تصویر ژل آگارزی فراورده های PCR حاصل از جفت آغازگر اختصاصی COR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ۵٩

شکل٤-٤-تصویر الگو های باندی تکثیر شده از ارقام حساس و کلون های موتانت به وسیله حفت آغازگرX2R1 COR 47 و COR 47 ٦٠

X2F1.....

شکل٤-٥- تصویر الگو های باندی تکثیر شده از ارقام متحمل و حساس و کلون های موتانت به وسیله جفت آغازگر اختصاصیCOR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ٦٢

شکل٤-٦-تصویر الگو های باندی تکثیر شده از کلون های موتانت به وسیله جفت آغازگر اختصاصی COR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ٦٣

شکل٤-٧- تصویر الگو های باندی تکثیر شده از ارقام نیمه متحمل، حساس وکلون های موتانت به وسیله جفت آغازگر اختصاصی COR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ٦٤

شکل٤-٨-تصویر الگو های باندی تکثیر شده از ارقام نیمه متحمل، حساس وکلون های موتانت به وسیله جفت آغازگر اختصاصی COR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ٦٥

شکل٤-٩- تصویر الگوهای باندی تکثیر شده از ارقام نیمه متحمل و کلون های موتانت به وسیله آغازگر COR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ٦٦

شکل٤-١٠- تصویری از الگو های باندی تکثیر شده از ارقام نیمه متحمل، حساس وکلون های موتانت به وسیله جفت آغازگرCOR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ٦٧

شکل ٤-١١- تصویر الگو های باندی تکثیر شده از ارقام حساس و کلون های موتانت به وسیله آغازگر COR 47 X2R1 و COR 47 X2F1..... ٦٨

شکل ٤-١٢-دندروگرم داده های مولکولی حاصله از PCR جفت آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق در ارقام و کلون های موتانت زردآلو..... ٦٩

مقدمه

زردآلو گیاهی است چند ساله و خشبی با نام علمی *Prunus armeniaca* L. و از تیره گلسرخیان (Rosaceae) بوده و یکی از میوه های مهم مناطق معتدله محسوب می شود. این میوه بومی آسیای میانه است. ایران به همراه ترکیه از تولیدکنندگان برجسته زردآلو می‌باشند؛ حدود ۳۰ درصد از کل تولید جهانی توسط این کشورها صورت می‌گیرد و نیز در حدود یک چهارم از کل سطح زیر کشت جهانی زردآلو از آنِ این دو کشور می‌باشد.

این گیاه دارای انواع و اقسام رقم های مرغوب و اصلاح شده می باشد که اکثر این ارقام، زودگل و حساس به سرمای دیررس بهاره هستند، بطوریکه بزرگترین خطری که کشت این محصول را تهدید می نماید، سرمازدگی شکوفه ها و میوه های تازه تشکیل شده آن در اوایل بهار می باشد. زردآلو دیپلوئید است($2n=16x,=8$). گل‌ها به صورت تک‌تک یا دوتایی در گره‌هایی که روی ساقه‌های خیلی کوتاه (ساقه‌های اصلی) قرار دارند، می‌رویند و گل‌هایی به میوه تبدیل می‌شوند که روی این ساقه‌های کوتاه شکفته می‌شوند. این ساقه‌ها ۳۵ سال پربار می‌مانند و میوه‌های با کیفیت عالی روی ساقه‌های جوان‌تر رشد می‌کنند. درخت زردآلو از جمله درختان برگ‌ریز است که در بهار بعد از درخت بادام گل می‌دهد و به همین دلیل در معرض سرمازدگی است. شکوفه‌ها بعد از یک دوره نزدیک ۱۲ هفته‌ای، بسته به شرایط آب و هوایی به بار می‌نشینند. گل‌دادن به ظاهر برگ‌ها، اینکه ساده، یک در میان، دندانه‌دار، گرد–بیضی، بیضی و یا نوک تیز باشند، بستگی دارد. در کشت متداول زردآلو، نزدیک به ۳۰۰ تا۱۲۰۰ ساعت سرمای زیر ۷+ درجه سانتی‌گراد نیاز است. زردآلو برای خارج شدن از دوره نهفتگی نیازمند آب و هوایی سرد است ولی شکوفه‌های تازه زردآلو بسیار به سرما حساس هستند. سرما زدگی میوه ها وشکوفه های زردآلو به خصوص در اوایل بهار باعث

میلیاردها ریال خسارت به باغات کشاورزی می شود. یکی از مهمترین صفات برای افزایش کشت زردآلو در مناطق وسیع، سازگاری به شرایط آبی، خاکی و اقلیمی است، که از این بین افزایش مقاومت به سرما مهمترین موضوع اصلاحی زردآلو می باشد. تنش سرما که شامل سرمازدگی (کمتر از ۲۰ درجه سانتی گراد) و یا یخ زدگی (کمتر از صفر درجه سانتی گراد) می باشد، اثر معکوسی بر رشد و پیشرفت گیاهان داشته و به طور معنی داری گسترش هوایی گیاهان را متوقف نموده و تولید کشاورزی را تحت تاثیر قرار می دهد. تنش سرمایی از بیان کامل ژنتیکی گیاهان جلوگیری نموده و تاثیر مهار مستقیم خود را بر واکنش های متابولیک و غیر مستقیم از طریق اسمز ناشی از القاء سرمایی (مهار جذب آب ناشی از القاء سرما و دهیدراتاسیون سلولی القاء شده از یخ زدگی) ، اکسیداتیو و سایر انواع تنش ها اعمال می کند.

اصلاح نباتات هنر بهبود ژنتیکی گیاهان است و هدف کلی آن بهبود خصوصیاتی از گیاهان است که در ارزش اقتصادی آنها نقش دارد. اهداف اصلاحی در زردآلو عبارتند از سازگاری با آب و هوا، انتخاب ارقامی با نیاز سرمایی طولانی و عدم پاسخ سریع به گرمای اواخر زمستان که نتیجه آن دیرگلی می‌باشد. مقاومت به بیماری و عملکرد کمی و کیفی خوب، از نظر تازه‌خوری میوه‌ها درشت باشند (بیش از ٦٠ گرم)، با ظاهری جذاب (رنگ روشن تا کرم مایل به نارنجی)، هسته جدا، گوشت محکم، مقاوم به شکاف خوردن و ریزش قبل از برداشت و همزمان رسیدن میوه‌ها داشته باشند.

از روش‌های اصلاح این گیاه می‌توان به انتخاب دوره‌ای، تلاقی برگشتی، دورگ‌گیری بین گونه‌ای و موتاسیون اشاره نمود. جهش می تواند توسط عوامل جهش زای شیمیایی و یا فیزیکی رخ دهد که هر کدام مزایا و معایب مخصوص خود را دارند. امروزه با استفاده از عوامل جهش زای فیزیکی نظیر پرتو گاما در تمامی زمینه ها از جمله تحقیقات کشاورزی، کاربرد وسیعی یافته و می توان به عنوان یک منبع ایجاد تنوع ژنتیکی از آن بهره جست (وارسته شمسی،۱۳۸۷). موفقیت در اصلاح گیاهان به

میزان تنوع ژنتیکی موجود در آنها بستگی دارد. از آن جایی که فراوانی جهش های طبیعی کمیاب می باشد، ایجاد جهش القایی وارد چرخه حیات شده و به این ترتیب تنوع ژنتیکی و سازگاری ژنوتیپی به منظور گسترش دامنه گزینش موثر افزایش یافته است. مواد جهش زا امکانات لازم به منظور ایجاد جهش و تغییرات ژنتیکی را فراهم می آورند ایجاد جهش منجر به ایجاد فنوتیپ های جهش یافته شده که پایه و اساس انتخاب در اصلاح نباتات مبتنی بر انتخاب فنوتیپ های دلخواه می باشد. صفاتی نظیر زود رسی، مقاومت به بیماری ها، تغییر رنگ برگ و یا گل و ارتفاع گیاه به آسانی با مشاهده قابل انتخاب می باشند اما این روش در مواردی که صفت جهش یافته به آسانی قابل تشخیص نباشد، کارایی کافی در انتخاب ندارد.

نشانگر های مولکولی یکی از انواع ابزار های مولکولی بوده که کارایی انتخاب لاین های جهش یافته برتر و تشخیص تنوع موجود بین آنها را افزایش می دهند.شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با تحمل به تنش سرما منجر به کشف مکانیسم تحمل به سرما و ژنهای دخیل در تحمل به تنش خواهد گردید. با کشف توالیهای ژنی دخیل در تحمل به تنش و کاربرد آنها در فرآیند انتخاب به کمک مارکر می توان فرآیندهای اصلاحی گیاه زردآلو را تسهیل و تسریع نمود. ایجاد نشانگرهای مولکولی پیوسته با یک ژن ابزاری مفید برای اصلاح گیاه می باشد بطوریکه بیان فنوتیپی ژن می تواند بدون صرف زمان مشخص شود. از طرفی اعمال تیمارهای تنش بر روی گیاهان جهت تعیین متحمل یا حساس بودن آنها، مستلزم هزینه ها وامکانات بسیاری است. ایجاد لاینهای متحمل به تنش سرما با صفات مطلوب چند سال بطول می انجامد ولی با ایجاد نشانگرهای مولکولی پیوسته می توان زمان این فرآیند اصلاحی را کاهش داد. هزینه های آماده سازی زمین، ایجاد کرتهای آزمایشی، اعمال تنش سرما در مراحل مختلف رشد گیاه، ارزیابی و آنالیز فنوتیپی گیاه تحت تنش و هزینه های کارگران، سالانه ۵-۱۰ میلیون تومان برآورد می گردد.

این گیاه دارای انواع و اقسام رقم های مرغوب و اصلاح شده می باشد که از مهم ترین آنها می توان شاهرودی، جهانگیری، شکرپاره، شمس، اردباد و غیره را اشاره نمود. رقم جهانگیری به میزان اندکی نسبت به سایر ارقام و بطور نسبی تحمل بیشتری نسبت به سرمازدگی از خود نشان داده است و می توان گفت زمینه ژنتیکی تحمل به سرمازدگی را به میزان کمی دارا می باشد. با توجه به این اطلاعات، این رقم انتخاب گردید تا شانس رسیدن به هدف افزایش یابد.

نشانگری که مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز باشد و با استفاده از آغازگر های اختصاصی (معمولا بیش از ۲۰ نوکلئوتید) ایجاد شود، یک جایگاه نشانمند از ردیف نامیده می شود. در حال حاضر یکی از مناسب ترین روش های تهیه نقشه های فیزیکی برای ژنوم های بزرگ نیز قابل استفاده است، نقشه یابی اس. تی . اس (با جایگاه های معلوم) است.این روش ، الگوی ساده و تکرار پذیری از باند ها را بر روی ژل آگارز یا اکریلامید به دست می دهد. الگو به راحتی قابل تفسیر و در بسیاری از موارد به صورت همبارز است و بنابراین می توان افراد ناخالص را از خالص تشخیص داد. وسایل و مواد مورد نیاز برای فناوری مرتبط با اس . تی . اس ارزان و آموزش و کار با آن نیز آسان است. از این نشانگر می توان برای مکان یابی سریع هر نوع ژن در نقشه های مولکولی استفاده کرد (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸).

نشانگر های STS همبارز، بسیار تکرار پذیر و از نظر تکنیکی برای استفاده ساده می باشند. (جونگ و ریمون–باتنر[1]، ۲۰۰۰).

هدف از این پژوهش، شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن های مسئول تحمل به تنش سرما درارقام متحمل و حساس و کلون های موتانت زردآلو با استفاده از تکنیک مولکولی STS می باشد. جهت نیل به این هدف تعدادی ژنوتیب حساس، نیمه حساس و ژنوتیپ تقریبا متحمل که بر اساس

[1]. Reamon-Buttner & Jung

آزمایشات چند ساله در باغ موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مورد بررسی و شناسایی بودند انتخاب شدند. ضمنا در این پژوهش ضمن ارزیابی تفاوتهای مشاهده شده بین ژنوتیپ های مختلف، کارآیی آغازگرهای اختصاصی جمعیت موتانت رقم والدی شاهرودی (دارای صفات مطلوب ولی حساس به سرما)، از پرتو تابی مورد ارزیابی قرار گرفت.