

Handwritten signature or scribble.



دانشگاه پیام نور

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته: بیوتکنولوژی

دانشکده: کشاورزی

گروه علمی: کشاورزی

عنوان پایان نامه:

بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انار بومی مناطق مرکزی ایران با استفاده از نشانگر AFLP

استاد راهنما:

دکتر مهدی زهراوی

استاد مشاور:

دکتر غلامرضا بخشی خانیکی

نگارش:

مریم مسلمی

۱۳۸۸

تشکر و قدردانی

در آغاز، لازم می‌دانم از زحمات بی‌دریغ و راهنمایی‌های ارزشمند استاد گرامی جناب آقای دکتر مهدی زهراوی در طی انجام این پروژه تشکر و قدردانی نمایم. همچنین از کلیه مسوولین محترم بخش بانک ژن گیاهی ملی ایران که در فراهم نمودن امکانات جهت انجام این تحقیق مرا یاری دادند سپاسگزارم.

بررسی تنوع ژنتیکی ارقام انار بومی مناطق مرکزی ایران با استفاده از نشانگر AFLP

چکیده

انار (*Punica granatum L.*) یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های خوراکی شناخته شده در جهان است. بر طبق نظر اکثر دانشمندان انار، بومی ایران بوده و از ایران به سایر کشورها انتقال پیدا کرده است. در این مطالعه، تنوع ژنتیکی درون و میان جمعیتی ۶۷ ژنوتیپ انار که متعلق به ۴ جمعیت از ایران بودند با استفاده از تکنیک AFLP بررسی شد. ۸ ترکیب آغازگری استفاده شده در این تحقیق، مجموعاً ۲۶۷ باندهای قابل امتیازدهی ایجاد کردند که از بین آنها ۱۱۸ (۴۴/۷٪) باندهای چندشکلی نشان داد. قدرت تفکیک نشانگرها بین ۵/۷۰ تا ۹/۲۱ متغیر بود. متوسط محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) ترکیب‌های آغازگری ۰/۴۰ تعیین شد. بر اساس تنوع ژنی نی (H) و شاخص‌های آلی، جمعیت اصفهان بیشترین تنوع ژنتیکی را دارا بود. ($H=0/3646$, $I=0/5327$, $N_e=1/6764$) شاخص تنوع بین مناطق (G_{ST}) برابر ۰/۱۲۴ بود، که نشان‌دهنده این است که سهم عمده‌ای از تنوع ژنتیکی (۸۷/۶٪) مربوط به تنوع درون جمعیت‌ها و سهم کوچکی از آن (۱۲/۴٪) مربوط به تنوع بین جمعیت‌ها می‌باشد، که نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) نیز موید این مطلب بود. میزان جریان ژنی (N_M) در بین جمعیت‌ها از ۰/۹۶۹ تا ۱۰/۴۰۴ متغیر بود. همچنین میزان جریان ژنی کل برابر ۳/۵۰۴۹ بدست آمد. تشابه بین ژنوتیپ‌ها از ۰/۸۸ برای نزدیکترین ژنوتیپ‌ها تا ۰/۲۶ برای دورترین ژنوتیپ‌ها بود. تجزیه کلاستر با استفاده از روش UPGMA ۶۷ ژنوتیپ مورد بررسی را در ۶ گروه اصلی قرار داد. اکثر ژنوتیپ‌های مربوط به یک جمعیت با هم دسته‌بندی شدند ولی تا حدی تبادل ژنی وجود داشت. همچنین تجزیه کلاستر بر اساس فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها نشان داد که جمعیت‌های یزد و کرمان کمترین فاصله را با هم داشته و جمعیت اصفهان بیشترین فاصله را با جمعیت‌های دیگر داشته و در یک گروه مجزا قرار گرفت. نتایج تجزیه بر اساس محورهای مختصات (PCoA) نیز با نتایج حاصل از تجزیه کلاستر مطابقت داشت. بر اساس نتایج این تحقیق، تکنیک AFLP به عنوان ابزاری مفید جهت بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های انار معرفی می‌گردد.

کلمات کلیدی: انار، تنوع ژنتیکی، نشانگر AFLP


فهرست مطالب


صفحه	عنوان
	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱ منشأ و تاریخچه انار
۳	۲-۱ خصوصیات ریخت‌شناسی و گیاه‌شناسی انار
۴	۳-۱ شرایط آب و هوایی و خاک‌های مناسب رویش انار
۴	۴-۱ ارقام انار
۵	۵-۱ موارد مصرف انار
۵	۶-۱ ترکیب شیمیایی میوه انار
۷	۷-۱ شاخصهای رسیدگی و کیفی میوه انار
۸	۸-۱ سطح زیرکشت، میزان تولید و عملکرد انار در ایران
۹	۹-۱ صادرات انار ایران
۹	۱۰-۱ آفات و بیماری‌های انار
۱۰	۱۱-۱ روشهای تکثیر و ازدیاد انار
	فصل دوم: بررسی منابع
۱۲	۱-۲ تنوع ژنتیکی و ضرورت مطالعه آن
۱۲	۲-۲ روشهای ارزیابی تنوع ژنتیکی
۱۳	۳-۲ نشانگرهای مولکولی
۱۴	۴-۲ چندشکلی طولی قطعات حاصل از تکثیر (AFLP)
۱۴	۱-۴-۲ اصول AFLP
۱۶	۲-۴-۲ مزایا و معایب تکنیک AFLP
۱۷	۳-۴-۲ انواع AFLP
۱۹	۵-۲ تنوع ژنوتیپ‌های انار در ایران
۲۰	۶-۲ مروری بر پژوهش‌های انجام شده در مورد تنوع ژنتیکی انار
	فصل سوم: مواد و روش‌ها
۳۰	۱-۳ مواد گیاهی


۳۱	۲-۳ استخراج DNA
۳۴	۳-۳ تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده
۳۴	۴-۳ مراحل اختصاصی روش AFLP
۳۹	۵-۳ تجزیه و تحلیل قطعات حاصل از تکثیر بر روی ژل
۴۵	۶-۳ تجزیه و تحلیل داده‌ها
۴۸	۷-۳ نرم افزارهای مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل داده‌ها
	فصل چهارم: نتایج و بحث
۵۰	۱-۴ نتایج حاصل از بررسی مولکولی
۵۳	۲-۴ تجزیه و تحلیل داده‌ها
۵۳	۱-۲-۴ توانایی آغازگرها در ایجاد چندشکلی
۵۵	۲-۲-۴ گروه بندی ژنوتیپ‌ها
۶۳	۳-۲-۴ گروه بندی جمعیت‌ها
۶۴	۴-۲-۴ تجزیه بر اساس محورهای مختصات
۶۵	۴-۲-۵ تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)
۶۸	نتیجه گیری کلی
۶۸	پیشنهادات
۶۹	پیوست
۱۰۲	فهرست منابع


فصل اول


مقدمه


منشأ و تاریخچه انار 

خصوصیات ریخت‌شناسی و گیاه‌شناسی انار 

ارقام انار 

موارد مصرف انار 

سطح زیرکشت، میزان تولید و عملکرد انار در ایران 

آفات و بیماری‌های انار 

۱-۱ منشأ و تاریخچه

هر چند مدرک دقیقی از کشت و کار انار در ایران به عنوان یک محصول باغی در دست نیست، اما شواهد زیادی از قدمت چندین هزار ساله آن حکایت می‌کند. بر طبق نظریه دکاندول و بنابر شواهد موجود، انار، بومی ایران و کشورهای هم‌جوار می‌باشد و مورخین آنرا همراه با انجیر و انگور بومی ایران باستان می‌دانند (۲۲).

قرار گرفتن ایران در منطقه یا مرکز چهارم ژنتیکی که شامل میوه‌جات نیمه‌گرمسیری چون انار، انجیر، خرما و زیتون می‌باشد، در تقسیم‌بندی هشتگانه مراکز تنوع گیاهان مختلف، که توسط دانشمندانی چون واولو، چیلدرز، دکاندول و سینگ اشاره شده است و شناخت بعضی از آفات و بیماری‌های انار به نوشته ابونصر هروی به سال ۹۲۱ هجری قمری، همه‌گویای این واقعیت است که موطن اصلی انار ایران می‌باشد (۳).

انار اولین بار احتمالاً از طریق ایران توسط جهانگردان و بازرگانان به یونان راه یافته و از طرف مشرق توسط شخصی به نام چانگ کین^۱ از طریق سمرقند و هندوستان به چین و توسط دریانوردان رومی به اروپا و آفریقا برده شد. در عین حال، برخی از مورخین انتقال درخت انار و گسترش آن در سطح قاره اروپا را به مسلمانان شهر گرانا‌دا در اسپانیا نسبت می‌دهند. لازم به ذکر است که نام انگلیسی میوه انار از نام این شهر مشتق شده است. و عرب‌های مسلمان پس از فتح سرزمین اسپانیا کشت انار را در آنجا معمول کردند. انار در سال ۱۵۲۱ میلادی به وسیله مبلغین مذهبی به مکزیک و در سال ۱۷۲۹ میلادی به کالیفرنیا آمریکا برده شد. در سالهای بعد همزمان با پیشرفت تمدن و انتقال ارقام مرغوب انار، سطح زیر کشت انار در بسیاری از کشورهای جهان توسعه چشم‌گیری یافت. و هم‌اکنون در ۳۵ کشور جهان با سطح زیر کشت کم و زیاد و در پاره‌ای موارد به صورت تک درخت وجود دارد. در حال حاضر، غیر از ایران که از نظر مرغوبیت ارقام، سطح زیر کشت و میزان تولید مقام اول را در جهان داراست این میوه در چند کشور آسیایی مانند پاکستان، جمهوری شوروی سابق و افغانستان به طور وسیع کشت می‌شود. در اروپا به طور عمده در شهر گرانا‌دای اسپانیا که در گذشته انارستان نام داشته کشت انار صورت می‌گیرد (۳، ۸، ۱۱، ۲۲، ۱۷).

¹ - chang Kein

۲-۱-۲ خصوصیات ریخت‌شناسی و گیاه‌شناسی انار

۱-۲-۱ خصوصیات ریخت‌شناسی انار

انار، درخت یا درختچه‌ایست پر شاخ و برگ، با شاخه‌های نامنظم کم و بیش خاردار و دارای پاجوشهای زیاد، که در مناطق سردسیری و نیمه‌گرمسیری به صورت خزان‌کننده و در نواحی گرمسیری به صورت همیشه سبز و به ارتفاع متوسط دو تا پنج متر می‌رسد. انار از جمله درختانی است که بیشتر به فرم چند تنه‌ای پرورش داده می‌شود. زیرا در این حالت، محصول به علت نفوذ آفتاب در بین شاخه‌ها فراوان تر بوده و کیفیت آن بهتر می‌شود. عمر اقتصادی و باردهی درخت انار بیش از ۴۰ سال است و چنانچه شرایط مناسب باشد هر ساله میوه می‌دهد (۲۱، ۱۱، ۱۷).

برگهای درخت انار نیزه‌ای شکل با کناره‌های صاف و ندرتاً کنگره‌ای، در ابتدای فصل بهار قرمز کم رنگ و بعد به رنگ سبز درمی‌آیند. گل‌های انار درشت، کامل و بدون بو هستند و به رنگ‌های مختلف قرمز، زرد و سفید دیده می‌شوند (۱۱). میوه انار از نوع سته خاص، معمولاً کروی شکل بوده و بسته به رقم، قطر آن از ۵ تا ۱۸ سانتیمتر متغیر و وزن آن به ۲۰۰ تا ۸۰۰ گرم می‌رسد (۸، ۱۷، ۲۵).

۲-۲-۱ خصوصیات گیاه‌شناسی

انار با نام علمی پونیکا گراناتوم^۱ از شاخه پیدازادان و رده نهاندانگان است. که متعلق به کوچک‌ترین خانواده گیاهی یعنی پونیکاسه^۲ است. این خانواده دارای تنها یک جنس پونیکا و دو گونه گراناتوم و پروتوپونیکا می‌باشد. که انارهای معمولی یا خوراکی و همینطور ارقام زینتی انار جزء گونه گراناتوم و بومی ایران و نواحی مدیترانه‌ای می‌باشند. در حالی که گونه دیگر به نام پروتوپونیکا بومی جزایر سوکوترا در اقیانوس هند بوده و میوه آن غیرخوراکی است. دانشمندان گیاه شناس عقیده دارند پونیکا گراناتوم که به اصطلاح جنس و گونه انار است از کلمه پونیک به معنای کارتاژ و گراناتوم که به معنای دانه دانه است، گرفته شده است. کلمه انگلیسی pomegranate از زبان یونانی مشتق شده که به معنی سیب با هسته‌های زیاد می‌باشد (۱۱، ۱۹).

^۱- *Punica granatum L.*

^۲- *Punicaceae*

۳-۱ شرایط آب و هوایی و خاکهای مناسب رویش انار

بهترین شرایط آب و هوایی برای درخت انار زمستانهای نسبتاً خنک، تابستانهای گرم و خشک و نسبتاً طولانی با امکانات آبیاری در طی فصل رشد می‌باشد. در واقع محدوده کشت انار، بین عرض ۴۱ درجه شمالی-جنوبی و تا حداکثر ارتفاع ۱۶۰۰ متری از سطح دریاست. مهمترین عامل آب و هوایی که کشت و کار انار را محدود می‌کند، سرمای زمستانه است. سرمای کمتر از 15°C - باعث سرمازدگی و از بین رفتن درخت می‌شود. انار قابلیت رویش در انواع خاکها را داشته اما خاکهای عمیق رسوبی یا لومی بهترین خاکها برای پرورش انار می‌باشد. انار میوه ای مقاوم به کم آبی است و در مکانهایی با متوسط بارندگی سالیانه ۵۰ میلی متر قادر به رشد است (۳، ۱۱، ۱۷).

۴-۱ ارقام انار

ارقام انار را بر اساس ملاک های متعددی که در جدول ۱-۱ آمده تقسیم‌بندی می‌کنند. در حال حاضر، معروفترین ارقامی که در جهان به صورت تجاری کشت و کار می‌شوند عبارتند از: رقم واندر فول^۱ در آمریکا و اسرائیل، رقم مولار^۲ و تندرال در اسپانیا، ملس ترش شهبسوار و رباب در ایران، هیکازنار^۳ و بینار در ترکیه، زهری در تونس (۶۳).

جدول ۱-۱ ملاکهای مهم تقسیم‌بندی انار

مشخصات اصلی	عامل تقسیم‌بندی
شیرین، ترش، ترش- شیرین (ملس یا میخوش)	طعم (مقدار قند و اسید)
زودرس، دیررس، میان‌رس	زمان رسیدگی
آبدار، کم آب	میزان آب
خیلی بزرگ، بزرگ، متوسط، کوچک، خیلی کوچک	اندازه میوه
سفید، صورتی، قرمز، قرمز پررنگ	رنگ دانه ها
زرد، سبز، گلی، قرمز، سیاه	رنگ پوست میوه
پوست نازک، پوست کلفت	ضخامت پوست

- 1- Wonderful
- 2- Mollar
- 3- Hicaznar

کشور ما از نظر تنوع ارقام نیز در جهان مقام اول را دارا بوده و دارای بیش از ۷۶۰ واریته اهلی وحشی و زینتی می‌باشد (۲۴) (پیوست الف).

۱-۵ موارد مصرف

تقریباً همه قسمت‌های این درختچه زیبا به نوعی در ایران کاربرد دارد. پوست میوه انار: پوست انار به علت دارا بودن مقدار زیادی پیگمانهای رنگی، در رنگرزی سستی جهت نخ قالی ایرانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین به علت وجود مقدار زیادی تانن در پوست، از آن در چرم‌سازی و دباغی استفاده می‌کنند. از جمله مصارف دیگر، استفاده از آن در داروسازی سستی و حتی پزشکی می‌باشد.

هسته انار: روغن هسته انار از جمله محصولات صنایع تبدیلی بوده که حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیراشباع و مقادیر کم مواد غیر صابونی و اسیدهای چرب فرار می‌باشد (۱۳).

چوب انار: از چوب انار در تهیه فیبر، کاغذ، کارتن وسایل و اشیاء زینتی و صنایع دستی استفاده می‌کنند. همچنین از تانن موجود در چوب انار در دباغی چرم استفاده می‌شود (۱۷).

ریشه ساقه گل و برگ انار: در داروسازی و پزشکی بویژه پزشکی سستی ایران، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷، ۱۳).

حتی خود درختچه انار به سبب داشتن گل‌های بسیار قشنگ و منفرد در برخی مناطق ایران و دنیا به عنوان یک گیاه زینتی کشت می‌شود. و از ارقام وحشی در مناطق حاشیه کویر برای جلوگیری از حرکت شن‌های روان و به عنوان بادشکن در مناطق ساحلی نیمه خشک و خشک استفاده می‌شود (۱۷، ۱۳).

۱-۶ ترکیب شیمیایی میوه انار

در ابتدا ذکر این نکته ضروری است که ترکیب شیمیایی میوه نه تنها بین انواع مختلف، بلکه بین ارقام آنها نیز بسیار متفاوت است. علاوه بر کولتیوار، عواملی چون شرایط جغرافیایی، آب و هوا، روش

تولید، میزان رسیدگی و حتی شرایط انباری در میزان نهایی ترکیبات مختلف میوه انار بسیار موثر می باشند. و تفاوت‌های عمده‌ای در میزان قندها، اسیدهای آلی، ترکیبات فنولی، ویتامینهای محلول در آب و املاح معدنی قابل مشاهده می‌باشد (۶۳). میزان ترکیبات موجود در ۱۰۰ گرم آب انار در جدول ۱-۲ قابل مشاهده است.

جدول ۱-۲ میزان ترکیبات موجود در ۱۰۰ گرم آب انار

مواد مغذی	مقدار	مواد مغذی	مقدار	مواد مغذی	مقدار
آب	۸۰/۹۷ گرم	روی	۰/۱۲ میلی‌گرم	ویتامین E	۰/۵۵ میلی‌گرم
انرژی	۶۸ کیلوکالری	کلسیم	۳ میلی‌گرم	ویتامین C	۶/۱ میلی‌گرم
پروتئین	۰/۹۵ گرم	آهن	۰/۳ میلی‌گرم	تیامین	۰/۰۳ میلی‌گرم
چربی	۰/۳ گرم	منیزیم	۳ میلی‌گرم	ریبوفلاوین	۰/۰۳ میلی‌گرم
خاکستر	۰/۶۱ گرم	فسفر	۸ میلی‌گرم	نیاسین	۰/۳ میلی‌گرم
کربوهیدرات	۱۷/۱۷ گرم	پتاسیم	۲۵۹ میلی‌گرم	پانتوتینیک اسید	۰/۶ میلی‌گرم
فیبر	۰/۶ گرم	سدیم	۳ میلی‌گرم	ویتامین B6	۰/۱ میلی‌گرم

برگرفته از ماخذ ۱۷

حدود ۶۰٪ از میوه انار را دانه تشکیل می‌دهد. که ۷۶-۸۵٪ از وزن دانه انار را آب، یا شیره انار تشکیل می‌دهد. که این نسبت به وزن کل میوه انار در حدود ۴۵-۶۵٪ می‌باشد. وزن مخصوص آب انار ۱/۵۱ گرم بر سانتی‌متر مکعب می‌باشد و از ترکیبات مختلفی چون قندها، اعم از قندهای احیاکننده (گلوکز و فروکتوز)، و غیر احیاکننده (پژوهش‌ها نشان داده که انارهای ترش فاقد این نوع از قندها می‌باشند)، لیپیدها، پروتیدها و اسیدهای آلی که به طور عمده شامل اسیدهای سیتریک، ال مالیک و اکسالیک بوده و در مقادیر کمتر اسیدهای آلی تارتاریک، سوکسینیک و کوئینیک می‌باشد، تشکیل شده است (۶۳). گلوتامیک اسید، عمده ترین اسیدآمین در عصاره انار است. انار از جمله محصولاتی است که طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه نظیر آلکالوئیدها، تاننها و ترکیبات فنولیک مانند اسیدهای فنولی و مشتقاتش و فلاونوئیدها (نظیر آنتوسیانین‌ها) را در خود جای داده است. تاننها از جمله موادی هستند که قسمت اعظم آنها در پوست میوه وجود داشته و به مقدار بسیار کمی در عصاره یافت می‌شود. عمده خاصیت آنتی‌اکسیدانی انار مربوط به تاننها قابل هیدرولیز آن می‌باشد. فرمول شیمیایی آنها $C_{76}H_{52}O_{46}$ بوده و در آب و الکل محلول هستند (۱۷).

انار منبع غنی از آنتوسیانین‌ها می باشد. سه نوع آنتوسیانین سیانیدین (عامل رنگ قرمز تیره یا سرخ)، دلفینیدین^۱ (عامل رنگ ارغوانی یا بنفش) و پلارگونیدین^۲ (عامل رنگ قرمز روشن تا قرمز نارنجی) رنگدانه های غالب قسمت‌های مختلف انار هستند (۸، ۶). آنتوسیانین‌های موجود در پوست میوه و گوشت دانه‌های انار در جدول ۱-۳ نشان داده شده است. پژوهش‌های مختلف نشان داده که پروفیل آنتوسیانین‌های موجود در عصاره آب انار در ارقام مختلف انار در کشورهای مختلف و حتی شرایط گوناگون آب و هوایی و کشاورزی یکسان بوده و شش آنتوسیانین نامبرده در جدول در همگی وجود دارد. تنها تفاوت در مقدار نسبی هر یک از آنتوسیانین‌ها مشاهده می‌شود. که عواملی چون رقم، شرایط جغرافیایی، زمان رسیدگی و آب و هوا در تعیین مقدار هر یک از آنها و در نهایت، مقدار کل آنتوسیانین موثر می باشد (۵۳، ۳۷، ۲۶).

جدول ۱-۳ آنتوسیانین‌های موجود در پوست و گوشت میوه انار

قسمت گوشتی میوه	پوست میوه
سیانیدین ۳-گلوکزید	سیانیدین ۳-گلوکزید
دلفینیدین ۳-گلوکزید	سیانیدین ۳ و ۵ دی گلوکزید
سیانیدین ۳ و ۵ دی گلوکزید	پلارگونیدین ۳-گلوکزید
دلفینیدین ۳ و ۵ دی گلوکزید	پلارگونیدین ۳ و ۵ دی گلوکزید
پلارگونیدین ۳-گلوکزید	
پلارگونیدین ۳ و ۵ دی گلوکزید	

برگرفته از ماخذ ۸

۱-۷ شاخصهای رسیدگی و کیفی میوه انار

۱-۷-۱ شاخصهای رسیدگی میوه انار

به‌طور معمول، میوه های انار با توجه به شرایط مختلف آب و هوایی و ارقام گوناگون از اواسط شهریور ماه تا اواخر آبان ماه به تدریج می‌رسند. با توجه به اینکه انار یک میوه غیرکلیماکتریک^۳ بوده و پس از برداشت، رسیدگی در آن رخ نمی‌دهد، بایستی پس از رسیدگی به حد مطلوب، نسبت به

^۱- Delphinidin

^۲- Pelargonidin

^۳- Non-climacteric

برداشت آن اقدام شود (۵۳، ۳۵، ۳۷، ۲۶). در ارتباط با میوه انار، مهمترین عامل تعیین کننده رسیدگی میوه، مقدار قند و نسبت قند به اسید است، که در ایران، بهترین و مناسبترین مقدار برای طعم (همان نسبت قند به اسید)، در انارهای ملس ۱۲ یا بیشتر است. از شاخص‌های دیگر رسیدگی، اندازه میوه و قرمزی رنگ آب انار و ایجاد حالت واکسی براق بر روی پوست میوه می‌باشد (۸، ۱۷، ۶۳).

۱-۷-۲ شاخص‌های کیفی میوه انار

کیفیت میوه‌های انار معمولاً به نحوه مصرف آنها وابسته است. همچنین، تحت تاثیر فرهنگ مردم، آب و هوا، زمان برداشت، نگهداری و انبار کردن قرار می‌گیرد. یک میوه انار با کیفیت بالا بایستی دارای پوستی جذاب، فاقد آفتاب‌سوختگی، ترک‌خوردگی، بریدگی، فساد و عاری از بیماریها و آفت‌زدگی باشد. طعم و مزه انار از مهمترین شاخصهای کیفی آن است. که مربوط به میزان قند و اسیدهای آن است. رنگ قرمز پوست و دانه و سطح براق از دیگر اندیسهای کیفیت می‌باشند.

۱-۸-۱ سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد انار در ایران

۱-۸-۱-۱ سطح زیر کشت انار در ایران

انار از نظر سطح زیر کشت، بعد از میوه‌هایی همچون پسته، انگور، خرما، سیب، پرتقال، بادام و گردو در رتبه هشتم قرار دارد (۸، ۳). بر اساس آمار موجود در سال ۱۳۸۱ بیشترین سطح زیر کشت، مربوط به استان فارس با ۱۲۱۷۰ هکتار بوده که حدود ۲۰/۵٪ از سطح زیر کشت کشور را شامل می‌شود. پس از استان فارس، استانهای خراسان، مرکزی، اصفهان و یزد به ترتیب مقام دوم تا پنجم از سطح زیر کشت کشور را به خود اختصاص داده‌اند. پنج استان فارس، خراسان، مرکزی، اصفهان و یزد جمعاً ۶۷٪ از سطح زیر کشت انار کل کشور را داشته و مهمترین مناطق کشت انار به شمار می‌روند.

۱-۸-۲ میزان تولید و عملکرد انار در ایران

بر اساس آمار موجود در سال ۱۳۸۱، بالاترین میزان تولید انار کشور مربوط به استان فارس با تولیدی برابر ۱۵۵۰۹۰ تن بوده که ۲۳/۶٪ از تولید کل کشور را به خود اختصاص داده است. پس از استان فارس، به ترتیب استانهای خراسان، مرکزی، اصفهان و یزد بیشترین میزان تولید را داشته و حدود ۷۵٪ از تولید کل کشور را این پنج استان به خود اختصاص می‌دهد (۲۰).

۱-۹ صادرات انار ایران

با توجه به اینکه ایران خاستگاه اصلی انار است، در گستره بین‌المللی دارای مزیت نسبی در تولید انار می‌باشد. ذکر این مطلب که هر بشکه انار ۸ برابر هر بشکه نفت ارزآوری برای کشور به همراه دارد، لزوم توجه به مقوله صادرات غیرنفتی را روشن می‌سازد (۱۷، ۱۶). مناسب‌ترین مصرف‌کنندگان انار ایران کشورهای آلمان، ایتالیا، فرانسه، انگلستان، هلند، اتریش، بلژیک، ژاپن و کره جنوبی هستند. که با داشتن مصرف‌کنندگان با درآمد بالا و تمایل به مصرف میوه زیاد، متراکم‌ترین ناحیه مصرف‌کنندگان بالقوه انار ایران هستند (۱۷، ۱۶).

۱-۱۰ آفات و بیماریهای انار

به طور کلی عواملی که موجب کاهش کمی و کیفی و خسران محصول می‌شوند به دو دسته عمده عوامل زنده و عوامل غیرزنده تقسیم‌بندی می‌شوند. از عوامل غیرزنده می‌توان به ترکیدگی میوه، آفتاب‌سوختگی، کمبود و زیادی عناصر کانی، عدم تلقیح گلها، نوع هرس، فواصل کاشت، طرز شخم‌زدن، کمیت و کیفیت آبیاری و عوامل اکولوژیکی مثل برودت، حرارت و تابش خورشید اشاره کرد. در میان این عوامل، ترکیدگی میوه از اهمیت بیشتری نسبت به دیگر عوامل برخوردار است (۱۱، ۱۷).

دسته دوم عوامل کاهنده، یعنی عوامل زنده به دو گروه آفتها و بیماریها تقسیم‌بندی می‌شوند. آفات را اغلب به حشرات نسبت می‌دهند و از انواع آنها می‌توان به شته سبز انار، کنه‌های انار، نماتدهای انار، کرم گلوگاه انار، شپشک آردآلود انار و... اشاره کرد.


بیماریهای انار را می‌توان به دو دسته بیماری‌های شاخ و برگ و بیماریهای میوه تقسیم‌بندی کرد. از انواع بیماریهای شاخ و برگ می‌توان به لکه برگ و باکتریایی، سوختگی باکتریایی و سرخشکیدگی درخت انار و... اشاره کرد. و از انواع بیماریهای میوه به انواع پوسیدگی میوه مانند پوسیدگی نرم میوه، پوسیدگی سیاه میوه و... اشاره کرد. بازداري از فعاليت عوامل کاهنده و دقت کافی به امر حفاظت از میوه در تمام مراحل کشت و کار و نگهداری، می‌تواند نقش موثری در افزایش محصول سالیانه داشته باشد (۱، ۴، ۱۷).


۱-۱۱ روشهای تکثیر و ازدیاد


تکثیر انار به دو روش جنسی و غیر جنسی صورت می‌گیرد. تکثیر جنسی انار که با استفاده از دانه گیاه می‌باشد، به ندرت انجام می‌شود چرا که در انار هم مانند سایر درختان میوه، نباید از بذر استفاده کرد. زیرا انار جز گیاهان هتروزیگوت بوده و بذر حاصل نمی‌تواند خصوصیات پایه مادری را حفظ کند. از این رو برای تکثیر این گیاه از روشهای غیرجنسی مانند قلمه زدن، پاجوش، خوابانیدن شاخه و پیوند زدن استفاده می‌شود. استفاده از قلمه خشبی، بهترین و ساده‌ترین روش به منظور ازدیاد این گیاه است. چرا که قلمه های آن به سادگی ریشه می‌دهد. پس از آن، خوابانیدن، باصرفه‌ترین روش تکثیر درخت انار است. امروزه پیشرفت علوم و تکنولوژی و دستیابی به تجهیزات مدرن، ریزازدیادی را به متخصصین عرضه داشته است (۱۷).


فصل دوم

بررسی منابع

تنوع ژنتیکی و ضرورت مطالعه آن 

نشانگرهای مولکولی 

تئوری و اصول AFLP 

مروری بر پژوهش‌های انجام شده درباره تنوع ژنتیکی انار 

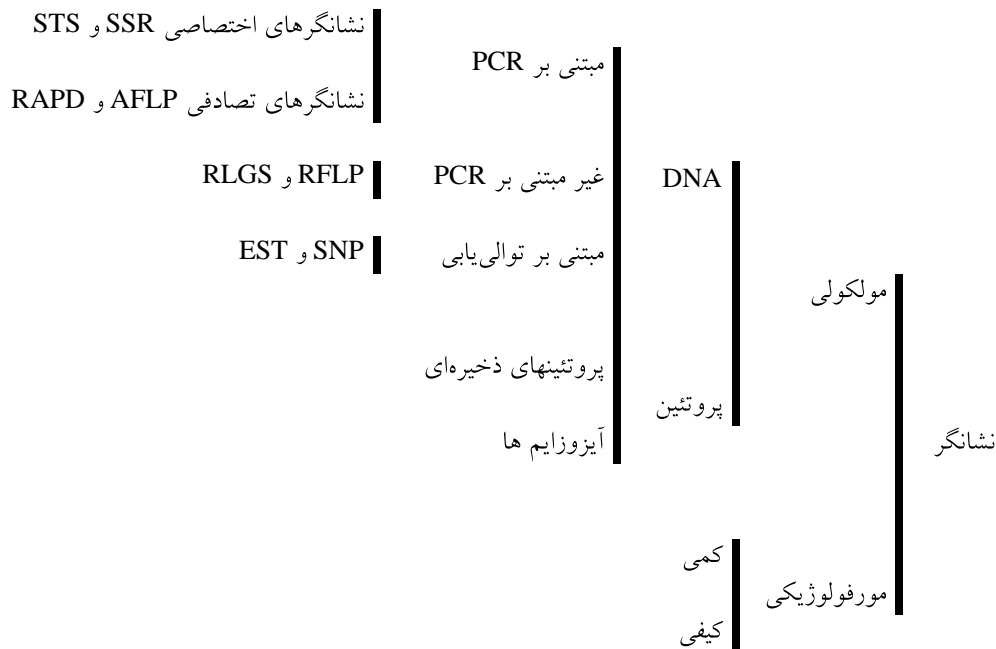
۱-۲ تنوع ژنتیکی و ضرورت مطالعه آن

تنوع بین گیاهان یک گونه بر دو نوع است: تنوع بر اثر محیط، که به مقادیر مختلف تنش محیطی واکنش می‌دهد و با مقایسه گیاهان دو جمعیتی که از لحاظ ژنتیکی یکنواخت هستند، می‌توان آن را مشاهده کرد. تاثیر محیط روی یک گیاه به نتاج آن منتقل نمی‌شود و بنابراین، انتخاب در یک جامعه یکنواخت ژنتیکی به جدا نمودن نژادهایی که در واکنش به تنشهای محیطی اختلاف دارند نمی‌انجامد. دسته دوم، تنوع ارثی است. از آنجایی که این نوع تنوع، ناشی از عوامل ارثی است و به نتاج قابلیت انتقال دارد، لذا، در اصلاح نباتات و برنامه‌های اصلاحی حائز اهمیت است. منشأ تنوع ارثی در گیاهان، نو ترکیبی‌های ژنتیکی و تغییرات در کروموزوم‌ها و جهش‌هاست (۲). تنوع، اساس برنامه‌های اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی و ماده خام ضروری برای آن است. یک بهنژادگر، در صورتی می‌تواند امید به موفقیت در برنامه‌های اصلاحی خود داشته باشد که شانس انتخاب مواد مناسب برای او موجود باشد. از این روست که منابع ژنتیک گیاهی، یکی از مهم‌ترین، پرارزش‌ترین و حیاتی‌ترین ذخایر و منابع طبیعی بشر محسوب می‌شود (۱۹).

۲-۲ روشهای ارزیابی تنوع ژنتیکی

جهت تعیین و برآورد تنوع ارثی گیاهان، می‌توان روشهای مختلفی را به‌کار برد. از جمله این روشها، به‌کاربردن انواع نشانگرها مثل نشانگرهای مورفولوژیک، نشانگرهای بیوشیمیایی و نشانگرهای DNA است (نمودار ۱-۲). در بین این روشها، نشانگرهای DNA، دقیق‌ترین و مطمئن‌ترین نشانگرها جهت تعیین و شناسایی تنوع است.

نمودار ۱-۲ گروه‌بندی نشانگرهای مختلف



۲-۳ نشانگرهای مولکولی

نشانگرهای مولکولی می‌توانند برای شناسایی پتانسیل ژنتیکی ژرم پلاسما کمک زیادی نمایند، بویژه، در مواردی که لازم است ژرم پلاسماهای خارجی به پایه ژنتیکی اصلاحی اضافه گردد، در حالی که دارای شجره و سابقه ناشناخته‌ای بوده و سازگاری کافی برای ارزیابی‌های اولیه از طریق کشت در مزرعه ندارند. بعلاوه از نشانگرهای مولکولی می‌توان در مطالعات مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات زراعی بویژه صفات کمی^۱ و شناسایی مناطق کروموزومی که اهمیت زراعی بیشتری دارند استفاده کرد (۳۴).

روشهای مولکولی، ابزار مناسبی برای مطالعه اثر تنوع ژنتیکی گیاهی روی پایداری اکوسیستم‌ها هستند. و این تنوع را می‌توان در چند سطح مورد بررسی قرار داد. تنوع حیاتی یک اکوسیستم معمولاً از روی تعداد گونه‌های موجود در آن مشخص می‌شود. ضمن اینکه تنوع درون گونه‌ای نیز ممکن است سهم قابل توجهی در باروری سیستم داشته باشد. روشهای مولکولی امکانات ویژه‌ای را برای

¹ - Quantitative Traits Loci

ارزیابی تنوع حیاتی ارائه می‌دهد. و می‌تواند روش کلیدی برای ایجاد راهبردهای حفاظتی مناسب باشد (۷۳).

۲-۳-۱ خصوصیات مناسب یک نشانگر مولکولی

- الف) باید چند شکل باشد. چرا که برای مطالعات تنوع ژنتیکی، معیار مورد استفاده، چندشکلی است.
- ب) توارث هم‌باز داشته باشد. یا به عبارتی دیگر، بایستی در موجود دیپلوئید، اشکال مختلف نشانگر قابل تمایز باشد و بتوان هموزیگوس را از هتروزیگوس تشخیص داد.
- پ) یک نشانگر باید به طور یکنواخت و فراوان سراسر ژنوم را پوشش دهد.
- ت) بایستی آسان، سریع و ارزان باشد.
- ث) بایستی تکرارپذیر باشد.
- ج) تبادل داده‌های آن با آزمایشگاه‌های دیگر امکان‌پذیر باشد (۳۹).

۲-۴ چندشکلی طولی قطعات حاصل از تکثیر (AFLP)

نشانگر AFLP در سال ۱۹۹۵ توسط ووس و همکاران معرفی شد (۷۷). آنان مدعی بودند که نشانگر مذکور، علاوه بر دارا بودن مزایای AFLP، مثل دقت و تکرارپذیری دارای ویژگی‌های مثبت روشهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز نیز می‌باشد. در سال ۱۹۹۳ شرکت کی‌جین، روش مذکور را به ثبت رسانید و این امر موجب بحث‌هایی در محافل علمی و بین دانشمندان غربی شد. به همین دلیل فاصله‌ای قریب به سه سال، از بیان این ایده تا انتشار اولین مقاله در این مورد وجود دارد (۱۵).

۲-۴-۱ تئوری و اصول AFLP

تکنیک AFLP مبتنی بر تکثیر دستجات خاصی از قطعات برش‌یافته ژنومی با استفاده از PCR می‌باشد. ابتدا DNA ژنومی بوسیله دو آنزیم، یکی با تعداد برش کم و دیگری با تعداد برش زیاد هضم می‌شود. علت استفاده از دو آنزیم برشی به دلایل زیر می‌باشد: