چکیده

زیتون *(Olea europaea L.)* یکی از اعضای خانواده *Oleacea* می باشد که شامل بیش از ۳۰ جنس و ۵۰۰ تا ۶۰۰ گونه پراکنده در نواحی معتدل مدیترانه ای می باشد. برای رسیدن به عملکرد بالا و محصول یکنواخت، احداث باغهای اصیل ژنتیکی از اهمیت زیادی برخوردار است. ارزیابی ژرم پلاسم های گیاهی اطلاعات مفیدی را در مورد ویژگیهای ارقام آشکار می سازد که می توانند در مطالعه الگوهای تنوع ژنتیکی و طرح ریزی برنامه های به نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

صفات مورفولوژیکی، زراعی و بیوشیمیایی گزینه های مناسبی برای ارزیابی تنوع به شمار میروند. استفاده از نشانگرهای مولکولی در این ارزیابی ها اطلاعات دقیقی در مورد ساختار ژنتیکی جمعیت ها فراهم می کند. در این پژوهش تعداد ۱۰ رقم زیتون ایرانی و خارجی با استفاده از نشانگرهای ISSR و RAPD مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد ۱۴ آغازگر ISSR در مجموع تعداد ۲۴۰ باند با وضوح بالا و خاصیت تکرار پذیری تولید کردند که از بین آنها ۱۹۹ باند (۸۲/۹۱٪) چند شکلی نشان دادند. تعداد ۸۳ باند توسط ۶ آغازگر RAPD تولید شد که از بین آنها تعداد ۶۵ باند (۷۸/۳۱٪) چند شکل بودند. میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) برای آغازگرهای ISSR در حدود ۰/۲۹۷ و برای نشانگرهای RAPD، ۰/۲۹۴ بدست آمد که نشان دهنده توانایی یکسان این دو نشانگر در شناسایی چند شکلی در ارقام زیتون مورد مطالعه می باشد. برای ارزیابی شباهت ها و اختلافات ژنومی بین ارقام از تجزیه خوشه ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد استفاده شد. با توجه به فاصله ژنتیکی بین ۱۰ رقم مورد مطالعه، میزان شباهت از ۰/۴۵ تا ۰/۷۱ برای آغازگرهای ISSR و از ۰/۴۲ تا ۰/۷ برای آغازگرهای RAPD متغیر بود. بر اساس نمودار درختی حاصل از روش UPGMA با استفاده از نشانگرهای ISSR و RAPD ارقام به ترتیب در ۳ و ۲ گروه اصلی قرار گرفتند. ضریب همبستگی بر اساس آزمون منتل بین ماتریس شباهت جاکارد حاصل از نشانگرهای RAPD و ISSR بالا بود (r =۰/۸۲) که نشان دهنده تطابق زیاد نتایج حاصل از این نشانگرها با یکدیگر می باشد. نتایج به دست آمده سودمندی نشانگرهای استفاده شده در جداسازی و تفکیک ارقام زیتون ایرانی از خارجی را تایید کرد. از طرف دیگر مشخص شد ارقام زیتون ایرانی در داخل جمعیت خود دارای تنوع بسیار مفیدی هستند که می‌توان از آن در برنامه های اصلاحی بهره برد.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، نشانگرهای مولکولی، زیتون

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده

فصل اول: مقدمه

مقدمه ۲

فصل دوم: کلیات و بررسی منابع

۲-۱- پیشینه تاریخی زیتون ۶

۲-۱-۱- تاریخچه زیتون در جهان ۶

۲-۱-۲- تاریخچه زیتون در ایران ۸

۲-۲- اهمیت زیتون ۸

۲-۳- جایگاه اقتصادی زیتون و روغن آن ۹

۲-۴- مراکز پیدایش و تنوع زیتون ۱۰

۲-۵- طبقه بندی جنس *Oleacea* ۱۱

۲-۶- گیاهشناسی درخت زیتون ۱۲

۲-۷- ارقام زیتون ۱۴

۲-۷-۱- ارقام زیتون ایرانی ۱۴

۲-۷-۱-۱- رقم روغنی ۱۵

۲-۷-۱-۲- رقم زرد ۱۵
۲-۷-۱-۳- رقم فیشمی ۱۵
۲-۷-۱-۴- رقم ماری ۱۶
۲-۷-۱-۵- رقم شنگه ۱۶
۲-۷-۲- ارقام زیتون خارجی ۱۷
۲-۷-۲-۱- رقم مانزانیلا ۱۷
۲-۷-۲-۲- رقم کنسروالیا ۱۸
۲-۷-۲-۳- رقم میشن ۱۹
۲-۷-۲-۴- رقم لچینو ۲۰
۲-۷-۲-۵- رقم کرونائیکی ۲۰
۲-۸- ویژگیهای ژنومی زیتون ۲۱
۲-۹- نشانگرهای ژنتیکی ۲۱
۲-۹-۱- نشانگرهای غیر مبتنی بر واکنش های زنجیره ای پلی مراز ۲۲
۲-۹-۱-۱- نشانگرهای RFLP ۲۲
۲-۹-۱-۲- نشانگرهای RLGS ۲۳
۲-۹-۲- نشانگرهای مبتنی بر واکنش های زنجیره ای پلی مراز ۲۳
۲-۹-۲-۱- نشانگرهای RAPD ۲۳
۲-۹-۲-۲- نشانگرهای ALP ۲۴
۲-۹-۲-۳- نشانگرهای PBR ۲۴

۲-۹-۲-۴- نشانگرهای SSCP ۲۴
۲-۹-۲-۵- نشانگرهای AFLP ۲۵
۲-۹-۲-۶- نشانگرهای ISSR ۲۵
۲-۱۰- انتخاب یک نشانگر مولکولی مناسب ۲۹
۲-۱۱- مطالعات انجام شده در زمینه تنوع ژنتیکی زیتون ۳۰
۲-۱۲- اهمیت و ضرورت تحقیق ۳۶

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱- جمع آوری نمونه های گیاهی ۳۸
۳-۲- استخراج DNA ۳۸
۳-۲-۱- تعیین کیفیت DNA استخراج شده ۳۹
۳-۲-۲- تعیین کمیت DNA استخراج شده ۳۹
۳-۳- روش انجام واکنش ISSR-PCR ۳۹
۳-۳-۱- واکنش زنجیره ای پلی مراز آغازگرهای ISSR ۳۹
۳-۳-۲- جداسازی و رنگ آمیزی قطعات تکثیر شده توسط آغازگرهای ISSR ۴۱
۳-۴- روش انجام واکنش RAPD-PCR ۴۱
۳-۴-۱- واکنش زنجیره ای پلی مراز آغازگرهای RAPD ۴۱
۳-۴-۲- جداسازی و رنگ آمیزی قطعات تکثیر شده توسط آغازگرهای RAPD ۴۲
۳-۵- بهینه سازی واکنش ۴۳
۳-۶- تجزیه و تحلیل داده ها ۴۳

۳-۶-۱- امتیاز دهی ژل ها ۴۳
۳-۶-۲- محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) ۴۴
۳-۶-۳- شاخص نشانگری(MI) ۴۴
۳-۶-۴- تجزیه خوشه ای ۴۵
۳-۶-۵- ضریب کوفنتیک ۴۵
۳-۶-۶- تجزیه به مختصات اصلی (PCoA) ۴۶
۳-۶-۷- تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی ۴۶

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- کمیت و کیفیت DNA استخراجی ۴۸
۴-۲- نتایج حاصل از آغازگرهای ISSR ۴۹
۴-۲-۱- چند شکلی آغازگرهای ISSR در ژنوتیپ های مورد مطالعه ۴۹
۴-۲-۲- میزان اطلاعات چند شکل (PIC) آغازگرهای ISSR ۵۲
۴-۲-۳- شاخص نشانگری برای آغازگرهای ISSR ۵۳
۴-۲-۴- تجزیه خوشه ای برای داده های حاصل از آغازگرهای ISSR ۵۴
۴-۲-۵- فاصله ژنتیکی حاصل از آغازگرهای ISSR ۵۵
۴-۲-۶- تجزیه به مختصات اصلی برای داده های حاصل از آغازگرهای ISSR ۵۶
۴-۲-۷- تجزیه به مولفه های اصلی برای داده های حاصل از آغازگرهای ISSR ۵۷
۴-۲-۸- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای بررسی جمعیت ها با استفاده از آغازگرهای ISSR ۵۸
۴-۳- نتایج حاصل از آغازگرهای RAPD ۵۹

۴-۳-۱- چند شکلی آغازگرهای (RAPD) در ژنوتیپ های مورد مطالعه ۵۹
۴-۳-۲- میزان اطلاعات چند شکل (PIC) آغازگرهای RAPD ۶۱
۴-۳-۳- شاخص نشانگری برای آغازگرهای RAPD ۶۲
۴-۳-۴- تجزیه خوشه ای برای داده های حاصل از آغازگرهای RAPD ۶۲
۴-۳-۵- فاصله ژنتیکی حاصل از آغازگرهای RAPD ۶۳
۴-۳-۶- تجزیه به مختصات اصلی برای داده های حاصل از آغازگرهای RAPD ۶۴
۴-۳-۷- تجزیه به مولفه های اصلی برای داده های حاصل از آغازگرهای ۶۵
۴-۳-۸- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای بررسی جمعیت ها با استفاده از آغازگرهای RAPD ۶۵
۴-۴- نتایج حاصل از آغازگرهای ISSR و RAPD ۶۷
۴-۴-۱- چند شکلی حاصل از آغازگرهای ISSR و RAPD در ژنوتیپ های مورد مطالعه ۶۷
۴-۴-۲- میزان اطلاعات چند شکل (PIC) آغازگرهای ISSR و RAPD ۶۷
۴-۴-۳- تجزیه خوشه ای برای داده های حاصل از آغازگرهای ISSR و RAPD ۶۹
۴-۴-۴- فاصله ژنتیکی حاصل از آغازگرهای ISSR و RAPD ۶۹
۴-۴-۵- تجزیه به مختصات اصلی برای داده های حاصل از آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۰
۴-۴-۶- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای بررسی جمعیت ها با استفاده از آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۲
۴-۵- نتیجه گیری کلی ۷۴
۴-۶- پیشنهادات ۷۶
فهرست منابع ۷۷
ضمیمه ۸۷

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- رده بندی گیاه زیتون ۱۳

جدول ۳-۱- نام و منشا ارقام زیتون جمع آوری شده ۳۸

جدول ۳-۲- مواد لازم برای انجام واکنش ISSR-PCR و RAPD-PCR و حجم آنها در واکنش ۴۰

جدول ۳-۳- نام و توالی آغازگرهای ISSR مورد استفاده ۴۰

جدول ۳- ۴- برنامه چرخه دمایی ISSR-PCR ۴۱

جدول ۳-۵- نام و توالی آغازگرهای RAPD مورد استفاده ۴۲

جدول ۳-۶- برنامه چرخه دمایی واکنش RAPD-PCR ۴۲

جدول ۴-۱- تعداد مکان ژنی، مکان های ژنی چندشکل، درصد چند شکلی، میزان اطلاعات چند شکل (PIC) و شاخص نشانگری (MI) برای آغازگرهای ISSR مورد استفاده ۵۲

جدول ۴-۲- ماتریس تشابه بدست آمده از اندازه گیری فاصله ژنتیکی ارقام زیتون بر اساس ضریب تشابه جاکارد با استفاده از آغازگرهای ISSR ۵۶

جدول ۴-۳- مقادیر ویژه و واریانس توجیه کننده توسط هر مولفه حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی برای آغازگرهای ISSR ۵۹

جدول ۴-۴- مقایسه تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بین جمعیت های زیتون با استفاده از آغازگرهای ISSR ۵۹

جدول ۴-۵- تعداد مکان ژنی، مکان های ژنی چندشکل، درصد چند شکلی، میزان اطلاعات ۶۲

چند شکل (PIC) و شاخص نشانگری (MI) برای آغازگرهای RAPD استفاده شده

جدول ۴-۶- ماتریس تشابه بدست آمده از اندازه گیری فاصله ژنتیکی ارقام زیتون بر اساس ضریب تشابه جاکارد با استفاده از آغازگرهای RAPD ۶۵

جدول ۴-۷- مقادیر ویژه و واریانس توجیه کننده توسط هر مولفه حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی برای آغازگرهای RAPD ۶۷

جدول ۴-۸- مقایسه تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بین جمعیت های زیتون با استفاده از آغازگرهای RAPD ۶۷

جدول ۴-۹- ماتریس تشابه بدست آمده از اندازه گیری فاصله ژنتیکی ارقام زیتون بر اساس ضریب تشابه جاکارد با استفاده از آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۲

جدول ۴-۱۰- مقایسه تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) بین جمعیت های زیتون با استفاده از آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۳

فهرست شکل ها و نمودارها

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱- ساختار گیاه زیتون ۱۳

شکل ۲-۲- رقم روغنی ۱۵

شکل ۲-۳- رقم زرد ۱۶

شکل ۲-۴- رقم فیشمی ۱۶

شکل۲-۵- رقم ماری ۱۷

شکل ۲-۶- رقم شنگه ۱۷

شکل ۲-۷- رقم مانزانیلا ۱۸

شکل ۲-۸- رقم کنسروالیا ۱۹

شکل ۲-۹- رقم میشن ۱۹

شکل ۲-۱۰- رقم لچینو ۲۰

شکل ۲-۱۱- رقم کرونائیکی ۲۱

شکل ۲-۱۲- طرح کلی از آغازگرهای بدون قلاب، قلاب شده در انتهای ´۳ و قلاب شده در انتهای ´۵ در واکنش ISSR-PCR ۲۶

شکل ۴-۱- بار گذاری DNA استخراج شده در ژل ۰/۸ درصد ۴۹

شکل ۴-۲- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-835 در ارقام زیتون ۵۰

نمودار ۴-۱- تعداد نوارهای حاصل برای آغازگرهای ISSR مورد استفاده در ارقام زیتون ۵۱

نمودار ۴-۲- تعداد قطعات DNA کل و DNA چند شکل تکثیر یافته توسط آغازگرهای ISSR مورد استفاده ۵۱

نمودار ۴-۳- درصد چند شکلی آغازگرهای ISSR مورد استفاده در ارقام زیتون ۵۲

نمودار ۴-۴- مقادیر محتوای چند شکل (PIC) حاصل برای آغازگرهای ISSR مورد استفاده ۵۳

نمودار ۴-۵- مقادیر شاخص نشانگری (MI) حاصل برای آغازگرهای ISSR ۵۴

نمودار۴-۶- نمودار درختی حاصل از روش UPGMA برای داده های بدست آمده از آغازگرهای ISSR ۵۵

نمودار ۴-۷- نمودار دوبعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی مبتنی بر ماتریس تشابه جاکارد برای داده های بدست آمده از آغازگر ISSR ۵۷

نمودار ۴-۸- نمودار سه بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی مبتنی بر ماتریس تشابه جاکارد برای داده های بدست آمده از آغازگر ISSR ۵۸

نمودار ۴-۹- درصد واریانس مولکولی درون و بین جمعیتی ارقام زیتون با استفاده از آغازگرهای ISSR ۶۰

شکل ۴-۴- الگوی نواربندی به دست آمده از آغازگر OPE-16 در ارقام زیتون ۶۰

نمودار۴-۱۰- تعداد نوارهای حاصل برای آغازگرهای RAPD مورد استفاده ۶۱

نمودار ۴-۱۱- تعداد قطعات DNA کل و چند شکل تکثیر یافته توسط آغازگرهای RAPD مورد استفاده ۶۱

نمودار ۴-۱۲- درصد چند شکلی آغازگرهای RAPD مورد استفاده در ارقام زیتون ۶۱

نمودار ۴-۱۳- مقادیر محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) حاصل برای آغازگرهای RAPD ۶۲

نمودار ۴-۱۴- مقادیر شاخص نشانگری (MI) حاصل برای آغازگرهای RAPD ۶۳

نمودار ۴-۱۵- نمودار درختی حاصل از روش UPGMA برای داده های حاصل از آغازگرهای RAPD ۶۴

نمودار ۴-۱۶- نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی مبتنی بر ماتریس تشابه جاکارد برای داده های بدست آمده از آغازگرهای RAPD ۶۵

نمودار ۴-۱۷- نمودار سه بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی مبتنی بر ماتریس تشابه جاکارد برای داده های بدست آمده از آغازگرهای RAPD ۶۶

نمودار ۴-۱۸- درصد واریانس مولکولی درون و بین جمعیتی ارقام زیتون با استفاده از آغازگرهای RAPD ۶۷

نمودار ۴-۱۹- تعداد نوارهای حاصل برای آغازگرهای RAPD و ISSR مورد استفاده در زیتون ۶۹

نمودار ۴-۲۰- تعداد قطعات DNA کل و چند شکل تکثیر یافته توسط آغازگرهای RAPD و ISSR مورد استفاده ۶۹

نمودار ۴-۲۱- درصد چند شکلی آغازگرهای ISSR و RAPD مورد استفاده در ارقام زیتون ۶۹

نمودار ۴-۲۲- مقادیر محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) حاصل برای آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۰

نمودار ۴-۲۳- نمودار درختی حاصل از روش UPGMA برای داده های حاصل از آغازگرهای RAPD و ISSR ۷۱

نمودار ۴-۲۴- نمودار دوبعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی مبتنی بر ماتریس تشابه جاکارد برای داده های بدست آمده از آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۲

نمودار۴-۲۵- نمودار سه بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی مبتنی بر ماتریس تشابه جاکارد برای داده های بدست آمده از آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۳

نمودار ۴-۲۶- درصد واریانس مولکولی درون و بین جمعیتی ارقام زیتون با استفاده از آغازگرهای ISSR و RAPD ۷۴

شکل۴-۵- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر OPE-16 در ارقام زیتون ۸۸

شکل۴-۶- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر OPA-10 در ارقام زیتون ۸۸

شکل۴-۷- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر OPA-11 در ارقام زیتون ۸۸

شکل۴-۸- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر OPB-01 در ارقام زیتون ۸۹

شکل۴-۹- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر OPE-06 در ارقام زیتون ۸۹

شکل۴-۱۰- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر OPF-05 در ارقام زیتون ۸۹

شکل۴-۱۱- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-807 در ارقام زیتون ۹۰

شکل۴-۱۲- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-808 در ارقام زیتون ۹۰

شکل۴-۱۳- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-810 در ارقام زیتون ۹۰

شکل۴-۱۴- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگرUBC-811 در ارقام زیتون ۹۱

شکل۴-۱۵- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-812 در ارقام زیتون ۹۱

شکل۴-۱۶- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-818 در ارقام زیتون ۹۱

شکل۴-۱۷- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-834 در ارقام زیتون ۹۲

شکل۴-۱۸- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-835 در ارقام زیتون ۹۲

شکل۴-۱۹- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-836 در ارقام زیتون ۹۲

شکل۴-۲۰- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-841 در ارقام زیتون ۹۳

شکل۴-۲۱- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-841Y در ارقام زیتون ۹۳

شکل۴-۲۲- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-856 در ارقام زیتون ۹۳

شکل۴-۲۳- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-868 در ارقام زیتون ۹۴

شکل۴-۲۴- الگوی نوار بندی بدست آمده از آغازگر UBC-880 در ارقام زیتون ۹۴

علائم اختصاری

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
ALP	Amplicon Length Polymorphism
Fst	F-statistics
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
PBR	PCR based RFLP
PCOA	Principle coordinates analysis
PCR	Polymerase chain reaction
PIC	Polymorphism information content
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RLGS	Restriction Landmark Genomic Scanning
SM	Simple Matching
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat
Ta	Annealing temperature
Tm	Melting temperature
UBC	University Of British Colombia

فصل اول

مقدمه

درخت زیتون با نام علمی *Olea europaea L.* که از تیره ی *Oleacea* می باشد، به دلیل مقاومت به کم آبی و سازگاری به خاکهای کم بازده و تولید محصول با ارزش وکم هزینه از نظر اقتصادی بسیار حائز اهمیت است (مسچی، ۱۳۸۱). محققان بیش از ۳۰ جنس برای این تیره پیشنهاد نموده اند که شامل ۵۰۰ تا ۶۰۰ گونه پراکنده در نواحی معتدل و گرمسیری می باشند (کرون کوئیست[1]، ۱۹۸۱ و روژینی و فدلی[2]، ۱۹۹۰). این جنسها شامل گونه های زینتی و مثمره می باشند و از بین آنها تنها گونه *O. europaea* دارای میوه خوراکی است.

یافته های باستان شناسان نشان میدهد تاریخ کشت زیتون در ایران به ۲۰۰۰ سال قبل باز می گردد. وجود زیتون های خودرو *O. Ferrugina* و *O. Aucheri* در سراسر کوههای زاگرس و جنوب ایران موجب شده است که بسیاری ازدانشمندان، ایران را خاستگاه زیتون بدانند (صادقی، ۱۳۸۱).

امروزه ایران با دارا بودن ۱۳۰ هزار هکتار سطح زیر کشت زیتون به عنوان یکی از کشورهای پرورش دهنده زیتون در جهان محسوب می شود. ذخایر ژنی زیتون ایران یکی از ذخایر ژنتیکی مهم زیتون در جهان می باشد (دفتر زیتون وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸۹).

زیتون درختچه ای است به ارتفاع تقریبا سه متر که در شرایط مساعد آب و هوایی ارتفاع آن به حدود ۱۲متر و قطر تنه اش به ۳ متر میرسد. چوب درخت زیتون بسیار سخت و مقاوم است. رنگ آن زرد است که خطوطی قهوه ای رنگ در آن وجود دارد. برگهای آن سبز رنگ، بیضوی و دراز و به وضع متقابل یکدیگر بر روی ساقه قرار گرفته اند.

زیتون معمولا در اوائل تابستان شروع به گل دادن می کند و میوه آن به تدریج ظاهر می شود. در اواخر تابستان میوه آن به ثمر می رسد. در این هنگام زیتون سبز است و کم کم تبدیل به رنگ بنفش و سپس سیاه می شود بطوریکه در اواخر پائیز که موقع برداشت میوه است رنگ آن بکلی تیره است.

جوانه گل زیتون در اواخر تابستان بین برگ و ساقه جوان همان سال ظاهر می‌شود ولی به حالت خفته باقی می‌ماند تا بهار سال بعد که این جوانه رشد کرده و شاخه تولید می‌کند. جوانه گل روی شاخه همان سال ظاهر می‌شود ولی میوه زیتون روی شاخه سال قبل قرار دارد.

یکی از پیامدهای اجتناب ناپذیر کشاورزی نوین که مبتنی بر استفاده از ارقام اصلاح شده با بیشترین عملکرد و کیفیت قابل قبول است، کاهش تنوع ذخایر ژنتیکی است. با این کاهش

[1] Cronquist
[2] Rugini & Fedeli

بسیاری از ژنهای مفید از دست رفته و محصولات زراعی عمده در معرض تهدید روز افزون تنشهای زیستی و غیر زیستی قرار گرفته اند. بنابراین آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی اهمیت زیادی دارد. درک و مدیریت تنوع طبیعی موجود در ارقام داخلی و خارجی گونه های گیاهی نقش مهمی در ایجاد برنامه های هدفدار برای بهبود محصولات زراعی ایفا میکند. اطلاعات مربوط به تنوع ژنتیکی برای انتخاب نژادهای والدینی و پیشگویی عملکرد هیبریدها مفید هستند.

از تکنیک های متفاوتی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی زیتون استفاده شده است. صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گزینه های مناسبی برای ارزیابی تنوع به شمار می روند. در گذشته شناسایی و تمایز کولتیوارهای موجود در ژرم پلاسم زیتون ایران با استفاده از صفات مورفولوژیکی مثل پهنای برگ، میزان رنگ گرفتن میوه، شکل هسته و غیره انجام می گرفت. در برخی موارد شناسایی و اندازه گیری صفات بیومورفولوژیکی بسیار مشکل و پیچیده است زیرا عواملی مثل نوسانات محیطی، سن درختان، مرحله فیزیولوژیکی گیاه، داوری انسان و مهارت آنها، بر روی اندازه گیری صفات تاثیرگذار هستند (خداری[1] و همکاران، ۲۰۰۱). از طرفی برای انجام این مطالعات دسترسی به گیاه بالغ الزامی است (سمایی و همکاران، ۲۰۰۲). مارکرهای مولکولی ابزار مکملی برای یافته های مورفولوژیکی هستند که برای شناسایی دقیق و مطمئن ژنوتیپ ها مورد استفاده قرار می گیرند. شناسایی مولکولی واریته های زیتون با ایجاد پروفایل مولکولی برای هر واریته قادر است که واریته ها را به درستی شناسایی کند (لاند[2]، ۱۹۹۱؛ خداری و همکاران، ۲۰۰۱).

اولین نشانگر مولکولی استفاده شده در شناسایی ارقام زیتون RAPD[3] بوده است(بوگانی و همکاران[4]، ۱۹۹۴؛ فابری و همکاران[5]، ۱۹۹۵؛ بلاج و همکاران[6]، ۱۹۹۸؛ مکوریا[7]، ۲۰۰۲؛ روزا و همکاران، ۲۰۰۳). بعد از آن نشانگرهای دیگری مانند AFLP[8] (آنجیولیلو و همکاران[9]، ۱۹۹۹؛ سنسی و همکاران[10]، ۲۰۰۳؛ مونته مورو و همکاران[11]، ۲۰۰۵)، SSR[1](لفرت و همکاران[2]، ۱۹۹۹؛

[1] Khadari, *et al*
[2] Lande
[3] Random amplified polymorphic DNA
[4] Bogani, *et al*
[5] Fabbri, *et al*
[6] Belaj, *et al*
[7] Mekuria, *et al*
[8] Amplified fragment length polymorphism
[9] Angiolillo, *et al*
[10] Sensi, *et al*
[11] Montemurro, *et al*

سفک و همکاران[۳]، ۲۰۰۱؛ رالو و همکاران[۴]، ۲۰۰۲؛ کریرو و همکاران[۵]، ۲۰۰۲؛ بندلج و همکاران[۶]، ۲۰۰۲؛ سابینو و همکاران[۷]، ۲۰۰۶؛ بریتو و همکاران[۸]، ۲۰۰۷)، ISSR[۹](پاسکوآلون و همکاران[۱۰]، ۲۰۰۱؛ پرادیپ و همکاران[۱۱]، ۲۰۰۲)، SCAR[۱۲](هرناندز و همکاران[۱۳]، ۲۰۰۱؛ بائوتیستا و همکاران[۱۴]، ۲۰۰۳؛ وو و همکاران[۱۵]، ۲۰۰۴) و SNP[۱۶](رئال و همکاران[۱۷]، ۲۰۰۶) در ارزیابی و تمایز ارقام زیتون مورد استفاده قرارگرفتند.

به دلیل هزینه بالای کاربرد مارکرهای AFLP و نیاز به داشتن اطلاعات در مورد توالی ژنوم برای استفاده از مارکرهای SSR، در این پژوهش از مارکرهای ISSR و RAPD برای مطالعه و بررسی ارقام زیتون ایرانی و خارجی استفاده شده است.

---

[1] Simple sequence repeat
[2] Lefort, *et al*
[3] Sefc, *et al*
[4] Rallo, *et al*
[5] Carriero, *et al*
[6] Bandelj, *et al*
[7] Sabino, *et al*
[8] Brito, *et al*
[9] Inter simple sequence repeat
[10] Pasqualone, *et al*
[11] Pradeep, *et al*
[12] Sequence characterized amplified regions
[13] Hernandez, *et al*
[14] Bautista, *et al*
[15] Wu, *et al*
[16] Single-nucleotide polymorphism
[17] Reale, et al

فصل دوم

کلیات و بررسی منابع

۲-۱- پیشینه تاریخی زیتون

زیتون، درخت تمدنهای بسیار کهن است که در نوشته های بسیار قدیمی از آن نام برده شده است. سابقه کشت زیتون در مصر به ۶۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح بر می گردد. تقدس این درخت برای مصریان به حدی بوده است که شاخه ای از آن را در تابوت مردگان خود می گذاشتند. بررسی سیر تاریخ نشان می دهد که ۳۰۰ سال قبل از میلاد مسیح این درخت قدیمی در فنیقیه، سوریه و فلسطین مورد کشت و کار بوده و همین تجار فینیقی بودند که ۱۱۰۰ سال قبل از میلاد آن را به غرب بردند و بدین ترتیب در شمال و جنوب مدیترانه پراکنده شد. دویست سال قبل از آن به لطف تجار مصری، این درخت به سیسیل ایتالیا، تونس، الجزایر، مراکش و جنوب فرانسه برده شد (صادقی، ۱۳۸۱).

مطالعات باستان شناسی نیز نشانه های بدیعی از اهمیت زیتون در تمدنهای گذشته را ارائه کرده است. نقاشی های باستانی که هم اکنون در موزه های کشورهایی همچون یونان و بریتانیا وجود دارد، همچنین تصاویری از درخت زیتون وحشی حکاکی شده بر روی ظروف قدیمی در آفریقا و تصاویر خدایان بر روی چوب درخت زیتون در زمان هومر و غیره، همگی دنیایی از سپاس از این درخت با ارزش را حکایت می کنند و همواره سعی بر آن بوده است که با ارزشترین اشیا مورد علاقه انسان، تصویری از زیتون بر خود داشته باشد (صادقی، ۱۳۸۱).

مذاهب نیز زیتون را مقدس و مبارک می شمردند. تورات زیتون را نخستین درخت می داند. نام این درخت در انجیل بیش از ۲۰۰ بار آورده شده و از این درخت به عنوان درخت عاقل یاد کرده است. اشارات قرآن کریم به زیتون در سوره های تین (آیه ۱)، نور (آیه ۳۵)، انعام (آیات ۹۹ و ۱۴۱)، نحل (آیه ۱۱)، عبس (آیه ۲۹) و مومنون (آیه ۲۰) نشان دهنده اهمیت و برکت این گیاه می باشد.

۲-۱-۱- تاریخچه زیتون در جهان

درخت زیتون از جمله قدیمی ترین و گسترده ترین گونه های درختی مثمره می باشد. زیتون مدتها قبل از پیدایش خط، نقاشی و معرق شناخته شده است (بارتولینی و پتروسلی، ۲۰۰۲).