بسم الله الرحمن الرحيم

٩٣٥٧/٣

دانشگاه بوعلی سینا

دانشکده کشاورزی

گروه علوم باغبانی

پایان نامه کارشناسی ارشد

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم باغبانی

عنوان:

شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در ارقام بادام ایرانی با استفاده از تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

استاد راهنما

دکتر احمد ارشادی

استاتید مشاور

دکتر منصور غلامی

دکتر علی دلجو

پژوهشگر

بابک ولیزاده کاجی

۱۳۸۶/۱۲/۱۰

دی ماه ۱۳۸۶

۹۳۵۷۳

دانشگاه بوعلی سینا

دانشکده کشاورزی

با نام و یاری خداوند متعال

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته باغبانی

آقای بابک ولیزاده کاجی

تحت عنوان

" شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در ارقام بادام ایرانی با استفاده از تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز "

به ارزش **۶ واحد** در روز **سه شنبه** مورخ **۸۶/۱۰/۴** در محل دانشکده کشاورزی با حضور جمعی از اساتید و دانشجویان برگزار گردید و با نمره ۱۹.۹۴ و درجه عالی به تصویب کمیته تخصصی زیر رسید.

۱- استاد راهنما	دکتر احمد ارشادی	امضاء
۲- اساتیدمشاور	دکتر منصور غلامی	امضاء
	دکتر علی دلجو	امضاء
۳- اساتید داور	دکتر علی ایمانی	امضاء
	دکتر فرشاد دشتی	امضاء
۴- مدیر گروه	دکتر احمد ارشادی	امضاء ۱۳۸۶/۱۱/۲۷
۵- سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر فرشاد دشتی	امضاء

۹۳۵۷۳

تقدیم

به

پدر و مادرم

تشکر و قدردانی

خداوند قادر و متعال را سپاس می‌گویم و بر آستان او سر تعظیم فرود می‌آورم که به بنده عنایت فرمود تا در ظل الطافش این تحقیق را به انجام برسانم.

از پدر و مادر بزرگورم که در همه حال پشتیبان من بوده و هرگز نمی‌توانم آن‌گونه که شایسته است از آن‌ها قدردانی کنم، سپاسگذارم.

به پاس حق‌شناسی بر خود لازم می‌دانم از همه استادان و عزیزانی که مرا در این امر یاری نمودند، تشکر و قدردانی نمایم.

از استاد گرانقدر جناب آقای دکتر ارشادی که راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند و با رهنمودهای استادانه خویش اینجانب را در طی انجام پژوهش یاری نموده اند کمال تشکر و سپاس گذاری دارم.

از اساتید بزرگوار جناب آقایان دکتر منصور غلامی و دکتر علی دلجو که مشاورت این پایان نامه را قبول نمودند، صمیمانه متشکرم.

از جناب آقایان دکتر ایمانی و دکتر دشتی که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند، تشکر می نمایم.

از اساتید گروه باغبانی جناب آقایان دکتر اثنی‌عشری، دکتر ساری‌خانی، مهندس الماسی و مهندس فرید که در امر پیشرفت و تحصیل اینجانب زحمات زیادی را متحمل شدند، تشکر می کنم.

از آقایان دکتر پیری و دکتر ظفری به خاطر محبتهای که در حق اینجانب داشته‌اند، تشکر و قدردانی می نمایم.

از مسئول آزمایشگاه بیوتکنولوژی خانم مهندس استاد احمدی که تلاش مداومی در جهت رفع مشکلات آزمایشگاه و دانشجویان مشغول در این آزمایشگاه داشتند، قدر دانی می نمایم.

همچنین از کلیه دوستان عزیزم آقایان رضا حقیقی، محمد موسیوند، سجاد سهیلی‌پور، علی مصطفی‌نژاد، علی اجاقی، یاسر غلام‌زاده، حجت قهرمانی، محمد الماسی، مالک دهقان، محمد رضا ذکایی، یاور وفایی، اسفندیار حسنی‌مقدم، محمد فتاحی، مجید غلامی، عابد رحمانی، رضا بهمنی، اکبر اسماعیلی، روح‌اله کریمی، همت احمدی، نبی هداوند، داوود کشاورزی، مصطفی عطری، محسن سالار پیشه و خانم‌ها عامریان، مشتاقی، رضایی، مرادی، فرساد، پازوکی و حقایق که در طی این دوره صمیمانه در کنار من بودند و در اجرای این پایان‌نامه مرا یاری دادند، از صمیم قلب متشکرم.

بابک ولیزاده دی ماه ۱۳۸۶

چکیده
مقدمه ۱
فصل اول: بررسی منابع ۴
۱-۱-گیاهشناسی ۴
۱-۲- شرایط باروری ۵
۱-۲-۱- خودبارور ۵
۱-۲-۲- دگربارور ۵
۱- ۲-۳- بکرزایی ۶
۱-۲-۴- آپومیکسی ۷
۱-۳- دوره گرده‌افشانی موثر ۸
۱-۴- زنیا و متازنیا ۹
۱-۵- گرده‌افشانی در بادام ۹
۱-۶- خوداناسازگاری ۱۰
۱-۶-۱- خوداناسازگاری هترومورفیک ۱۲
۱-۶-۲- خوداناسازگاری هموومورفیک ۱۳
الف: خوداناسازگاری گامتوفیتیک ۱۴
ب: خوداناسازگاری اسپروفیتیک ۱۵
۱-۶-۲- مکانیسم‌های خود ناسازگاری ۱۶
۱-۶-۳- سایر ژن‌های تنظیم کننده عمل خود ناسازگاری ۱۸
۱-۶-۴- مشخصات ساختمانی و بیوشیمیایی اس‌اران‌آزها ۱۹
۱-۶-۵- ژن تعیین‌کننده ناسازگاری گرده ۲۱
۱-۷- روش‌های تعیین ژنوتیپ‌های ناسازگاری ۲۲
۱-۷-۱- بررسی درصد تشکیل میوه ۲۲
۱-۷-۲- گرده افشانی در شرایط آزمایشگاه و بررسی رشد لوله گرده ۲۳
۱-۷-۳- آنالیز ریبونوکلئازهای خامه گل ۲۴
۱-۷-۴- روشهای مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (پی‌سی‌آر) ۲۵
۱-۷-۵- توالی‌یابی ۲۶
۱-۸- وضعیت خوداناسازگاری در درختان میوه خانواده رزاسه ۲۷
۱-۸-۱- سیب ۲۷
۱-۸-۲- گلابی ۲۸

۱-۸-۳- زردآلو ۲۹
۱-۸-۴- گیلاس و آلبالو ۳۰
۱-۸-۵- آلو ۳۲
۱-۹- وضعیت خودناسازگاری در بادام ۳۲
۱-۹-۱- گروه‌های دگرناسازگاری در بادام ۳۴
۱-۹-۲- خودسازگاری در بادام ۳۶
۱-۹-۳- ارقام با ژنوتیپ مشکوک ۳۸
فصل دوم: مواد و روشها ۴۱
۲-۱- مواد گیاهی ۴۰
۲-۲- استخراج دی‌ان‌ای ۴۰
۲-۳- تعیین کمیت و کیفیت دی‌ان‌ای ۴۱
۲-۴- تکثیر اختصاصی آللها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۴۲
۲-۵- تکثیر عمومی آللها به روش پی‌سی‌آر ساده و مرکب ۴۴
۲-۶- تکثیر اولین اینترون ژن خودناسازگاری به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۴۶
۲-۷- تکثیر دومین اینترون ژن خودناسازگاری به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۴۸
فصل سوم: نتایج و بحث ۵۰
۳-۱- اندازه‌گیری کمیت و کیفیت دی‌ان‌ای ۵۰
۳-۲- تکثیر اختصاصی آلل‌های خودناسازگاری به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۵۰
۳-۳-تکثیر عمومی آلل‌های خودناسازگاری به روش پی‌سی‌آر ساده و مرکب ۵۴
۳-۴- شناسایی آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از آغازگرهای عمومی اولین اینترون ژن خودناسازگاری .. ۶۰
۳-۵- شناسایی آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از آغازگرهای عمومی دومین اینترون ژن خودناسازگاری ۶۳
۳-۶- ژنوتیپ‌های خودناسازگاری ارقام بادام ایرانی ۶۷
۳-۷- نتیجه‌گیری کلی و پشنهادات ۷۲
پیوست ۷۵
منابع ۷۸

جدول۱-۱- درصد تشکیل میوه در ارقام خودسازگار، نیمه‌سازگار و خودناسازگار بعد از خودگرده‌افشانی ۲۲
جدول۱-۲- گروه‌های دگرناسازگاری در مهمترین ارقام بادام ۳۵
جدول ۱-۳- برخی مشخصات ۱۶ رقم خودسازگار بادام ۳۷
جدول ۱-۴- ارقام با ژنوتیپ مشکوک بادام ۳۹
جدول ۲-۱- توالی، دمای اتصال و اندازه باند مربوط به جفت آغازگرهای اختصاصی ۴۳
جدول ۲-۲- تهیه مخلوط اصلی واکنش برای تکثیرجفت آغازگرهای اختصاصی ۴۴
جدول ۲-۳- شرایط دمای پی‌سی‌آر برای تکثیر جفت آغازگرهای اختصاصی ۴۴
جدول۲-۴- تهیه مخلوط اصلی واکنش پی‌سی‌آر ساده برای تکثیر عمومی آلل‌های خودناسازگاری ۴۵
جدول۲-۵- تهیه مخلوط اصلی واکنش پی‌سی‌آر مرکب برای تکثیر عمومی آلل‌های خودناسازگاری ۴۵
جدول۲-۶- شرایط دمایی پی‌سی‌آر برای تکثیر عمومی آلل‌های خودناسازگاری به روش پی‌سی‌آر ساده و مرکب ۴۶
جدول ۲-۷- تهیه مخلوط اصلی واکنش پی‌سی‌آر برای تکثیر اولین اینترون ژن خودناسازگاری ۴۷
جدول ۲-۸- شرایط دمایی پی‌سی‌آر برای تکثیر اولین اینترون ژن خودناسازگاری ۴۷
جدول ۲-۹- تهیه مخلوط اصلی واکنش پی‌سی‌آر برای تکثیر دومین اینترون ژن خودناسازگاری ۴۸
جدول ۲-۱۰- شرایط دمایی پی‌سی‌آر برای تکثیر دومین اینترون ژن خودناسازگاری ۴۹
جدول ۳-۱- نتایج تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در ارقام بادام ایرانی و خارجی ۵۲
جدول۳-۲- اندازه باندهای تکثیر شده مربوط به ۱۰ آلل خودناسازگاری و آلل خودسازگاری S_f به روش پی‌سی‌آر ساده و مرکب ۵۶
جدول۳-۳- آلل‌های شناسایی شده در ارقام بادام ایرانی و خارجی به روش پی‌سی‌آر ساده و مرکب ۵۸
جدول۳-۴- اندازه باندهای تکثیر شده با استفاده از آغازگرهای عمومی طراحی شده بر اساس اولین و دومین اینترون ژن خودناسازگاری ۶۲
جدول ۳-۵- آلل‌های شناسایی شده در ارقام بادام ایرانی و خارجی با استفاده از آغازگرهای عمومی طراحی شده براساس اولین و دومین اینترون ژن خودناسازگاری ۶۴
جدول۳-۶- ژنوتیپ‌های خودناسازگاری و گروه‌های دگرناسازگاری با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و عمومی ۷۱

شکل۱-۱- ساختارهای دوخامگی و سه‌خامگی در خودناسازگاری هترومورفیک. ۱۳
شکل ۱-۲- در خودناسازگاری گامتوفیتیک از رشد لوله گرده دارای هاپلوتیپ ناسازگاری مشابه با یکی از دو هاپلوتیپ مادگی جلوگیری می‌شود. ۱۵
شکل۱-۳- در خودناسازگاری اسپروفیتیک اگر والد گرده دارای هاپلوتیپ مشابه با یکی از دو هاپلوتیپ مادگی داشته باشد از عمل هر دو گرده جلوگیری می‌شود. ۱۶
شکل ۱-۴- مدل‌های مختلف جلوگیری از رشد لوله گرده خودی توسط ریبونوکلئازهای خامه گل ۱۸
شکل۱-۵- تصویر ساختار اس‌اران‌آزها در خانواده سولاناسه و جنس پرونوس ۲۱
شکل ۳-۱- غلظت‌سنجی دی‌ان‌ای ژنومی ارقام مورد مطالعه در مقایسه با غلظت‌های مختلف فاژ لامبدا ۵۰
شکل ۳-۲- تکثیر آلل خودناسازگاری S_7 با استفاده از آغازگرهای اختصاصی. ۵۱
شکل۳-۳- تکثیر آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از آغازگرهای اختصاصی. ۵۳
شکل ۳-۴- تکثیر آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از تکثیر عمومی آللها عمومی به روش پی‌سی‌آر ساده. ۵۴
شکل ۳-۵- تکثیر آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از آغازگرهای عمومی AS1II ، AMYC5R و CEBASf ۵۹
شکل۳-۶- تکثیر آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از آغازگرهای عمومی اولین اینترون ۶۰
شکل ۳-۷- تکثیر آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از آغازگر عمومی دومین اینترون ژن خودناسازگاری. ۶۵

چکیده

در مطالعه حاضر آلل‌های خودناسازگاری ۱۶ رقم بادام ایرانی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و عمومی تعیین گردید. به طور کلی چهارده آلل مختلف با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و عمومی در ارقام بادام ایرانی شناسایی شد. با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ۶ آلل خودناسازگاری S_1، S_2، S_7، S_8، S_9 و S_{23} در ارقام مورد بررسی تکثیر گردید. برای سه رقم هر دو آلل و برای نه رقم تنها یک آلل مشخص شد. با استفاده از آغازگرهای AS1II و AmyC5R (به روش پی‌سی‌آر ساده) و آغازگرهای AS1II، AmyC5R و CEBASf (به روش پی‌سی‌آر مرکب)۱۰ آلل خودناسازگاری شناخته شده S_1، S_2، S_3، S_7، S_9، S_{10}، S_{11}، S_{12} و S_{13} در ارقام مورد بررسی شناسایی گردید. از ۳۲ آلل خودناسازگاری موجود در ارقام بادام ایرانی ۲۸ آلل با استفاده از پی‌سی‌آر ساده و مرکب مشخص شد. در ۱۲ رقم هر دو آلل خودناسازگاری و در ۴ رقم تنها یک آلل شناسایی گردید. همچنین چهار باند با اندازه متفاوت از محصول پی‌سی‌آر مربوط به آلل‌های خودناسازگاری شناخته شده در ارقام ایرانی مامایی، ربیع، سهند، شیربادام، حاج‌میرزایی و خورشیدی تکثیر شد. از ۳۲ آلل خودناسازگاری موجود در ارقام بادام ایرانی مورد بررسی، ۲۸ آلل با استفاده از آغازگرهای اولین اینترون و ۳۰ آلل با استفاده از آغازگرهای دومین اینترون مشخص شد. نتایج به‌دست آمده از کاربرد آغازگرهای اولین و دومین اینترون نشان داد که باندهای ظاهراً جدید شناسایی شده به روش پی‌سی‌آر ساده و مرکب در ارقام حاج‌میرزایی و خورشیدی مربوط به آلل S_{23} و در ارقام ربیع و سهند مربوط به آلل S_{27} می‌باشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده با استفاده از مجموع آغازگرهای اختصاصی و عمومی دو آلل خودناسازگاری جدید در ارقام مامایی و شیر بادام شناسایی گردید و موقتاً به عنوان آلل‌های S_x و S_y نامگذاری شدند. آلل‌های S_2، S_7 و S_{13} دارای بیشترین فراوانی بوده و هر کدام در ۴ رقم بادام ایرانی شناسایی شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که تکثیر آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یک روش دقیق و سریع برای شناسایی آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از دی‌ان‌ای ژنومی ارقام بادام است.

کلمات کلیدی: بادام، آلل‌های خودناسازگاری، آغازگر

مقدمه

مقدمه

بادام با نام علمی *Prunus dulcis* Miller یکی از گونه‌های دیپلوئید متعلق به خانواده رزاسه[1] و زیر خانواده پرونوئیده[2] می‌باشد. این درخت بومی آسیای غربی و ایران است و تا سواحل مدیترانه گسترش دارد. علاوه بر بادام های زراعی، گونه‌های وحشی بسیار متعددی در خاورمیانه و آسیای مرکزی به طور گسترده ای وجود دارد (لوپز[3] و همکاران، ۲۰۰۶).

بادام یکی از قدیمی‌ترین محصولات آجیلی درختی است و امروزه بالاترین میزان تولید را در میان محصولات تجاری خشکبار به خود اختصاص می‌دهد. بادام میوه‌ای است که دارای مصارف گوناگونی است. عمده مصرف غذایی آن صنایع شیرینی سازی و شکلات است. مغز بادام به صورت خام و یا بوداده مصرف آجیلی دارد. مغز بادام غنی از اسیدهای آمینه، چربی، مواد قندی، مواد معدنی و ویتامین‌ها است (درویشان، ۱۳۷۹).

در باغداری مدرن درصد تشکیل میوه بالا اهمیت زیادی دارد، تنها زمانی که شرایط برای انجام گرده‌افشانی و تشکیل میوه در درخت مطلوب باشد، می‌توان عملکرد زیادی انتظار داشت. کلیه این فرایندها تحت تأثیر عوامل محیطی، عناصر غذایی و ساختار ژنتیکی درخت واقع می‌شود (غلامی و کیمیایی طلب ،۱۳۸۲).

بر اساس آمار فائو[4] در سال ۲۰۰۶ تولید جهانی بادام ۱۷۴۴۰۹۴ تن بوده و کشورهای آمریکا با ۷۱۵۶۲۳ تن، اسپانیا با ۲۲۰۰۰۰ تن، سوریه با ۱۱۹۶۴۸ تن، ایتالیا با ۱۱۲۷۹۶ تن، و ایران با ۱۰۸۶۷۷ تن مقام اول تا پنجم را در این زمینه دارا می‌باشند. مهمترین استان‌های تولیدکننده بادام به ترتیب فارس، خراسان رضوی، آذربایجان شرقی، چهارمحال و بختیاری و کرمان می‌باشند (بی-نام، ۱۳۸۴).

بیشتر ارقام بادام خودناسازگار[5] هستند و تعدادی از ارقام با هم دگرناسازگار[6] می‌باشند (اورتگا[7] و همکاران، ۲۰۰۵). سیستم خودناسازگاری در بادام از نوع گامتوفیتیک[8] بوده و توسط یک مکان ژنی[9] با چندین فرم آللی کنترل می‌شود (بوسکوویچ[10] و همکاران، ۱۹۹۷b). برای به

1- Rosaceae
2- Prunoidae
3- Lopez
4- F.A.O
5- Self-incompatible
6- Cross-incompatible
7- Ortega
8- Gametophytic
9- S-locus
10- Boskovic

دست آوردن حداکثر باردهی در باغات بادام باید حداقل دو رقم سازگار با هم که زمان گلدهی آنها همپوشانی کافی دارد در کنار هم کاشته شوند. شناسایی آلل‌های خودناسازگاری جهت افزایش عملکرد در باغات تجاری و در کارهای اصلاحی به منظور اطمینان از تلاقی‌های کنترل شده مفید می‌باشد (لوپز و همکاران، ۲۰۰۶).

گراسلی و کراسا رایناد[1] (۱۹۸۵) برای اولین بار در فرانسه با استفاده از تلاقی‌های کنترل‌شده شش آلل خودناسازگاری و یک آلل خودسازگاری را در ارقام بادام شناسایی کردند (نقل از بوسکوویچ و همکاران، ۱۹۹۷b). در این روش مقدار بسیار زیادی دانه گرده روی کلاله ریخته می‌شود و لذا تمایز دقیق بین ترکیب کاملاً سازگار و نیمه‌سازگار مشکل و خطابرانگیز است. همچنین نتایج این روش به مقدار بسیار زیادی تحت‌تأثیر عوامل محیطی و فیزیولوژیکی قرار می‌گیرد. برای انجام تلاقی، گیاهان باید وارد فاز گلدهی شده باشند، به علاوه این آزمایش‌ها وقت‌گیر، هزینه‌بر و بعضی مواقع خطابرانگیز است (ارشادی، ۱۳۸۲؛ ایشی میزو[2] و همکاران، ۱۹۹۹).

در طی دهه اخیر با بررسی ایزوآنزیم ریبونوکلئازهای خامه گل، ۲۳ آلل خودناسازگاری در ارقام بادام شناسایی شده است (بوسکوویچ و همکاران، ۱۹۹۷b و ۲۰۰۳؛ سرتال[3] و همکاران، ۲۰۰۲). آنالیز ریبونوکلئازهای خامه گل یک روش موثر و سودمند برای شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در بادام و دیگر درختان میوه خانواده رزاسه می‌باشد. البته این روش بر روی نهال‌های جوان قابل اجرا نمی‌باشد و گیاه باید وارد فاز گلدهی شود (ارشادی، ۱۳۸۲).

استفاده از روش‌های جدید مبتنی بر پی‌سی‌آر در بررسی خودناسازگاری درختان میوه طی دهه اخیر از موفقیت زیادی برخوردار بوده است. از جمله این روش‌ها تکثیر اختصاصی و عمومی آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است. این روش، قابل اجرا بر روی نهال‌های جوان بوده و یک شیوه سریع، ارزان و قابل اجرا در بررسی خودناسازگاری و دگرناسازگاری درختان میوه است.

تاکنون هشت جفت آغازگر اختصاصی برای آلل های خودناسازگاری S_1، S_2، S_5، S_7، S_8، S_9، S_{10}، S_{23} و یک جفت آغازگر اختصاصی برای آلل خودسازگاری Sf طراحی شده است (چانونتاپیپات[4] و همکاران، ۲۰۰۱ و ۲۰۰۳). به منظور شناسایی آلل‌های خودناسازگاری شناخته شده و آلل‌های خودناسازگاری جدید، چندین جفت آغازگر عمومی از نواحی محافظت شده

1- Grasselly and Crossa-Raynud
2- Ishimizu
3- Certal
4- Channuntapipat

مکان ژنی ناسازگاری در بادام و دیگر گونه‌های پرونوس طراحی شده است (سونوولد[1] و همکاران، ۲۰۰۳؛ پرز[2] و همکاران، ۲۰۰۳؛ ساترلند[3] و همکاران، ۲۰۰۴؛ اورتگا و همکاران، ۲۰۰۵). این روش قابل اجرا بر روی نهال‌های جوان بوده و یک شیوه سریع، ارزان و قابل اجرا جهت شناسایی ژنوتیپ ناسازگاری درختان میوه مانند بادام است. تا به حال با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و عمومی طراحی شده ۲۹ آلل خودناسازگاری (S_1-S_{29}) و آلل خودسازگاری S_f در ارقام بادام شناسایی شده است.

با توجه به اینکه ایران موطن بادام بوده و دارای مقام پنجم جهانی در تولید این میوه می‌باشد و به دلیل ظرفیت بالای کشور در تولید این میوه و افزایش صادرات این محصول و همچنین به دلیل اقبال عمومی باغداران و مصرف‌کنندگان نسبت به مصرف این میوه، تعیین ژنوتیپ خودناسازگاری ارقام به منظور افزایش عملکرد باغ‌ها از طریق بالا بردن درصد گرده‌افشانی موفق و تشکیل میوه کافی، بعنوان یکی از اولویت‌های تحقیقاتی می تواند مد نظر قرار گیرد.

میانگین عملکرد جهانی بادام ۱۳۰۰ کیلوگرم در هکتار می‌باشد در حالی که میانگین عملکرد بادام در ایران ۸۶۰ کیلوگرم در هکتار است. یکی از دلایل عملکرد پایین بادام در ایران عدم توجه به گرده‌زای مناسب می‌باشد. بنابراین باید وجود سازگاری و ناسازگاری در بین ارقام مختلف مورد بررسی قرار گیرد. از آنجا که تا به حال کار تحقیقاتی در زمینه بررسی وضعیت ناسازگاری ارقام بادام ایرانی انجام نشده است، این پایان‌نامه با هدف تعیین ژنوتیپ ناسازگاری ارقام بادام ایرانی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و عمومی طراحی شده، انجام شد.

1- Sonneveld
2- Perez
3- Sutherland

فصل اول

بررسی منابع

۱-۱-گیاهشناسی

بادام با نام علمی *Prunus dulcis* Miller یکی از گونه‌های دیپلوئید متعلق به خانواده رزاسه و زیر خانواده پرونوئیده می‌باشد که خویشاوندی نزدیکی با گونه‌های مختلف میوه‌های هسته‌دار به ویژه با هلو و شلیل دارد (لوپز و همکاران، ۲۰۰۶).

علاوه بر بادام اهلی، گونه‌های وحشی بسیار متعددی وجود دارند که از مهمترین آنها می‌توان از گونه‌های ذیل نام برد (درویشان، ۱۳۷۹).

P. fenzliana: گونه‌ای است که در ارمنستان شناسایی شده و مشخصاتی نزدیک به بادام اهلی دارد.

P. kuramica : در افغانستان بسیار گسترده است. درختی شبیه به بادام اهلی با هسته‌های کوچک می‌باشد.

P. spartioides: در مناطق زاگرس ایران و همچنین در افغانستان دیده می‌شود. گونه‌ای است که فاقد برگ بوده و عمل فتوسنتز آن به وسیله شاخه‌های سبز انجام می‌شود.

P. spinosissima: گونه‌ای بوته‌ای شکل و بسیار خاردار که میوه‌های ریز و کوچک داشته و به طور گسترده‌ای در خاورمیانه و آسیای مرکزی وجود دارد.

P. bucharica : گونه‌ای است با برگ‌های پهن و کوتاه و هسته‌ای صاف و نوک تیز که پیش‌رس می‌باشد.

P. orientalis: برگ‌های کرک‌دار این گونه آن را از سایر بادام‌های وحشی متمایز می‌کند.

P. webbii : گونه‌ای است کاملاً غربی که در کوه‌های یونان، بلغارستان، صربستان تا جنوب ایتالیا و سیسیل می‌روید. بوته‌ای کم و بیش خاردار داشته و خودگشن می‌باشد که بر اثر دورگ-گیری با گونه‌های زراعی سبب بوجود آمدن گونه‌های زراعی خودگشن در جنوب ایتالیا شده است.

گل بادام شامل ۵ کاسبرگ، ۵ گلبرگ و ۲۰ تا ۳۰ پرچم است. تخمدان آن یک برچه‌ای و محتوی دو تخمک و میوه آن شفت می‌باشد. معمولاً یکی از دو تخمک درون تخمدان به رشد خود ادامه نمی‌دهد، بنابراین در داخل میوه یک دانه تشکیل می‌شود. در بعضی مواقع ممکن است هر دو تخمک نمو کرده و دو دانه یا مغز در داخل میوه بوجود آید (درویشان، ۱۳۷۹).

گل انگیزی بادام از اردیبهشت ماه تا خرداد ماه سال قبل و در ارقامی که گل‌های زیادی تولید می‌کنند در حدود اواخر اردیبهشت ماه صورت می‌گیرد و تمایز گل آن در مرداد ماه است. اوایل پاییز قسمت‌های اولیه گل در جوانه‌ها به وجود می‌آید. زمان شکوفه‌دهی بسته بهٔ رقم و منطقه کشت در اوایل بهمن تا اوایل اردیبشت ماه است (رسول‌زادگان، ۱۳۷۰؛ جلیلی مرندی و حکیمی رضایی، ۱۳۷۷).

۱-۲- شرایط باروری

درختان میوه را می‌توان بر اساس وضعیت باروری‌شان به گروه‌های زیر طبقه‌بندی نمود:

۱-۲-۱- خودبارور[1]

رقمی خودبارور تلقی می‌شود که در گرده‌افشانی با گرده خود بتواند تولید میوه حاوی بذر زنده نماید. این نوع ارقام نیاز به دگرگرده‌افشانی ندارند، بنابراین می‌توان آنها را به صورت انفرادی کشت نمود. در ارقام خود بارور استفاده از گرده‌زاها باعث افزایش تشکیل میوه می‌گردد (ایمانی، ۱۳۸۴).

ارقام با درجه خودباروری کم (ارقام حد واسط بین خودبارور و دگرباور) نیز وجود دارد که برای تشکیل میوه در حد مطلوب به گرده‌زا نیاز دارند. رقمی تقریباً خودبارور است که در صورت گرده‌افشانی با گرده همان رقم تشکیل میوه با درصد پایین را بدهد. از این گروه می‌توان به سیب، آلبالو، آلو و زردآلو اشاره نمود (ایمانی، ۱۳۸۴).

باروری کاذب[2] به پدیده‌ای اشاره می‌گردد که در آن لوله‌های گرده خودناسازگار به تخمدان رسیده و تلقیح صورت می‌گیرد، اما تعداد خیلی کمی از سلول‌های تخم‌زا در این روش بارور می‌شوند. در برخی از ارقام دگربارور، خودباروری جزئی در شرایط محیطی یا فیزیولوژیکی خاص نظیر گرده‌افشانی با مقدار زیاد گرده یا درجه حرارت خیلی بالا (۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد) در زمان گلدهی صورت می‌گیرد (ایمانی، ۱۳۸۴).

۱-۲-۲- دگربارور[3]

ناتوانی یک رقم در تولید میوه با بذر زنده بعد از خودگرده‌افشانی را دگرباروری می‌گویند (میرمحمدی میبدی و همکاران، ۱۳۸۳). این نوع ارقام معمولاً با رقم یا ارقام مختلف تلقیح می‌شوند، بنابراین ارقام دگربارور را باید همواره با ارقام گرده‌زا کشت نمود. گل‌های گیاهان دگربارور به دلیل داشتن ساختمان و مشخصات خاص سبب دگرگرده‌افشانی گل‌های خود می‌شود. برخی از این ساختمان‌ها و مشخصات عبارتند از:

۱- ساختمان گل مانع خودگرده‌افشانی می‌شود که به دو صورت پین[4] (کلاله بالاتر از پرچم‌ها) و ترووم[5] (پرچم‌ها بالاتر از کلاله)وجود دارد(میرمحمدی میبدی و همکاران، ۱۳۸۳).

1- Autofertile
2- Pseudo fertility
3- Cross fertile
4- Pin
5- Thrum

۲- زمان رسیدگی دانه گرده و مادگی، متفاوت باشد. در این حالت رسیدن دانه گرده و تخمک در گل‌های دو جنسی و یا گل‌های تک جنسی که روی یک درخت قرار دارند همزمان نمی‌باشد و به دو صورت پیش‌نر[۱] و پیش‌ماده[۲] دیده می‌شود. در هر دو صورت ناهمرسی[۳] گیاه را وادار به دگرلقاحی می کند(میرمحمدی میبدی و همکاران، ۱۳۸۳).

۳- نرعقیمی و ماده عقیمی: هنگامی که عقیمی به علت ناتوانی برای ایجاد گرده‌های فعال باشد به آن نرعقیمی[۴] می گویند. ماده عقیمی[۵] ناتوانی در تولید تخمک‌های فعال می‌باشد(میرمحمدی میبدی و همکاران، ۱۳۸۳).

۴- خودناسازگاری: خودناسازگاری یکی از علت‌های اصلی دگرباروری در گیاهان می‌باشد که به تفضیل در مباحث بعدی توضیح داده خواهد شد.

۵- گل‌های نر و ماده روی یک پایه یا روی دو پایه قرار دارند. این وضعیت در گیاهان یک پایه، دو پایه و یا در گیاهان دارای گل‌های تک جنسی دیده می‌شود (میرمحمدی میبدی و همکاران، ۱۳۸۳).

گیاهان دگرگرده‌افشان در طبیعت موفق‌تر و پایدارتر هستند و به همین دلیل دگرگرده‌افشانی طبیعی معمول است. جامعه گیاهی دگرگرده‌افشان بسیار انعطاف‌پذیر و سازگار بوده، در آن به سرعت ترکیبات ژنی مناسب که برای ادامه زندگی در شرایط زیستی خاص لازم است بوجود می‌آید (میر محمدی میبدی، ۱۳۸۳).

۱-۲-۳- بکرزایی[۶]

اصطلاح بکرزایی به میوه‌های بدون بذر اطلاق می‌شود که بدون گرده‌افشانی یا بدون تیمارهای خارجی رشد می‌نمایند. بکرزایی طبیعی (بکرزایی رویشی[۷]) به حالتی اطلاق می‌شود که رشد میوه بدون دخالت هر نوع گرده‌افشانی صورت می گیرد. در مورد بکرزایی القایی[۸] می‌توان گفت که در این حالت میوه‌های بکرزا در اثر تحریکات گرده‌ای تشکیل می‌شوند. بنابراین نمو میوه ناشی از گرده‌افشانی است ولی تلقیح صورت نمی گیرد. بکرزایی مصنوعی[۹] به مواردی اشاره دارد که میوه در اثر تحریک عوامل داخلی یا خارجی یا مواد شیمیایی تشکیل می گردد، از مثال‌های عوامل خارجی می‌توان به درجه حرارت بالا یا پایین در طی گلدهی و خسارت آفات اشاره نمود. از سایر

1- Protandry
2- Protogyny
3- Dichogamy
4- Male strility
5- Female strility
6- Parthenocarpy
7- Vegetative parthenocarpy
8- Stimulative parthenocarpy
9- Artificial parthenocarpy

عوامل تحریک‌کننده می‌توان به حلقه‌برداری پوست، ایجاد زخم، حذف برخی از قسمت‌های کلاله و خامه از گل‌های اخته شده، بالا بودن هورمون‌های تخمدان و غیره نام برد (ایمانی ، ۱۳۸۴). پدیده استنوسپرموکارپی[1] به نمو میوه‌هایی اشاره دارد که بذور در اثر تلقیح تشکیل می‌گردند ولی در مراحل رشد بعدی سقط می‌شوند و به دلیل انجام لقاح با پدیده پارتنوکارپی متفاوت می‌باشد. این پدیده در انگورهای بی دانه و گیاهان زینتی متداول است. ارقامی که دارای بکرزایی منظم هستند دارای ارزش علمی برای کشت و کار می‌باشند. این ارقام در شرایط نامناسب آب و هوایی در بهار که گرده‌افشانی موفق انجام نمی‌شود قادر به تولید میوه قابل توجهی هستند (ورما و جیندال[2]، ۱۹۹۶).

نمو میوه بکرزا در بادام نقص محسوب می‌شود، چون در بادام بذر قسمت عمده قابل فروش میوه است (ایمانی، ۱۳۸۴).

۱-۲-٤- آپومیکسی[3]

در بعضی از گیاهان (بیش از ۳۰۰ گیاه از ۳۵ خانواده مختلف) بذر بدون لقاح گامت‌های نر و ماده حاصل می‌شود. این روش تولید مثل غیر جنسی در گیاهان حالت خاصی از دخترزایی یا بکرزایی است که در خانواده‌های گرامینه[4]، رزاسه، آستراسه[5] و مرکبات منجر به تولید بذر می‌شود و به آپومیکسی معروف است. بذرهای آپومیکت کاملاً شبیه والد مادری هستند. به جزء جنس مرکبات اکثر گیاهان آپومیکت پلی‌پلوئید هستند. آپومیکسی دارای سه نوع آپوسپوری[6]، دیپلوسپوری[7] و جنین‌زایی نابجا[8] می‌باشد (میر محمدی میبدی، ۱۳۸۲). در آپوسپوری که شکل معمول آپومیکسی می‌باشد جنین از کیسه جنینی بدون میوز یا به دنبال نقص سلول مادر مگاسپور یا از یک سلول سوماتیکی تخمک بوجود می‌آید. وقتی که جنین به طور مستقیم از یک سلول مادر مگاسپور کاهش کروموزمی نیافته ناشی می‌شود این وضعیت دیپلوسپوری نامیده می‌شود. در جنین‌زایی نابجا جنین مستقیماً از بافت‌های سوماتیکی تخمدان بوجود می‌آید. آپومیکسی در گردو خصوصاً در سال‌هایی که تخمدان در اثر سرما آسیب می‌بیند، باعث تشکیل درصد محدودی میوه می‌شود(کاشی و وحدتی، ۱۳۷۷).

1- Stenospermo carpy
2- Verma and Jindal
3- Apomixs
4- Poaceae
5- Asteraceae
6- Apospory
7- Diplospory
8- Vegetative emberyony

۱-۳- دوره گرده‌افشانی موثر[1]

دوره گرده‌افشانی موثر به تفاوت بین طول عمر کیسه جنین و زمان لازم برای رسیدن لوله گرده به کیسه جنین اشاره دارد. طول دوره گرده‌افشانی موثر بر حسب روز بیان می‌شود. اگر طول عمر تخمک ناکافی و فقط چند روزه باشد و رشد لوله گرده نیز به یک هفته زمان نیاز داشته باشد، در این صورت امکان تلقیح وجود ندارد. دوره گرده‌افشانی موثر بسته به رقم و درجه حرارت از یک تا ده روز در گلابی و دو تا ده روز در سیب طول می‌کشد (راحمی، ۱۳۸۱).

عوامل متعددی رشد لوله گرده یا طول عمر تخمک را تغییر داده و زمان آن را کوتاه یا افزایش می‌دهند. در ارقام تری‌پلوئیدی که دستگاه تخمزا ۲-۳ روز بعد از باز شدن گل بالغ می‌شود، چنین ارتباطی تغییر کرده و طول عمر تخمک افزایش می‌یابد. مصرف ازت در اواخر تابستان نیز طول عمر تخمک و دوره گرده‌افشانی موثر را به نحو قابل‌توجهی افزایش می‌دهد (راحمی، ۱۳۸۱).

دما در گرده‌افشانی، جوانه زدن دانه گرده، آهنگ رشد لوله گرده و طول عمر کیسه جنینی موثر است. در هوای خنک، جوانه زدن دانه گرده و رشد لوله گرده به کندی پیش می‌رود و زمان پذیرا بودن تخمک افزایش می‌یابد. در هوای گرم جوانه زدن دانه گرده و رشد لوله گرده بیشتر می‌شود اما کیسه جنینی به سرعت از بین می‌رود. به هر حال، طول عمر تخمک ثابت نیست و به رقم، وضع تغذیه درخت و دما بستگی دارد (راحمی، ۱۳۸۱).

در بادام برای جوانه زنی و رشد لوله گرده درجه حرارت ۱۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد مورد نیاز است. این مقدار پایین‌تر از حدی است که برای درختان میوه خزان‌دار لازم می‌باشد. البته این درجه حرارت به رقم بستگی دارد. زمان جوانه زنی و رشد لوله گرده بادام حدود سه روز طول می‌کشد. البته این موضوع به درجه حرارت و رقم بستگی دارد. به‌عنوان مثال رشد لوله گرده در ۱۵ درجه سانتی گراد سه برابر بیشتر از رشد آن در ۱۰ درجه سانتی‌گراد بوده است. دوره پذیرش کلاله مادگی ۳-۵ روز می‌باشد (تهرانی‌فر و همکاران، ۱۳۷۷). فندق دارای طولانی‌ترین دوره گرده‌افشانی موثر می‌باشد و مدت آن کاملاً شناخته شده نیست (جلیلی مرندی و حکیمی رضایی، ۱۳۷۷).

1- Effective pollinatin period (E.P.P)