

سورة الاحقاف



دانشکده کشاورزی

مرکز تهران شرق

پایان نامه

برای دریافت مدرک کارشناسی ارشد

رشته: بیوتکنولوژی

گروه: کشاورزی

عنوان

ارزیابی روابط خویشاوندی برخی ژنوتیپ‌های بومی شمال ایران با برخی
از ارقام تجارتي گلابی آسیایی (*Pyrus pyrifolia Nakai.*) با استفاده

از نشانگرهای ریزماهواره

رعنا معاضدی

اساتید راهنما:

دکتر فریبرز زارع نهندي دکتر محمد طاهر حلاجیان

استاد مشاور:

دکتر محمدعلی ابراهیمی

شهریور ۱۳۹۱

شماره:
تاریخ:
پیوست:

صور تجلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم رعنا معاضدی
دانشجوی مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی به شماره دانشجویی
880322552
تحت عنوان:

"ارزیابی روابط خویشاوندی برخی ژنوتیپ های بومی شمال ایران با برخی از ارقام
تجاری گلابی آسیایی (pyrus pyrifolia) " یا استفاده از نشانگرهای
RFLP

جلسه دفاع با حضور داوران نامبرده ذیل در روز یکشنبه مورخ: 91/6/26 ساعت: 11-12

در محل مرکز تهران شرق برگزار شد. پس از بررسی پایان نامه مذکور با نمره به عدد
به حروف و با درجه ارزشیابی مورد قبول واقع شد نشد

امضاء	دانشگاه/ موسسه	مرتبه دانشگاهی	نام و نام خانوادگی	هیات داوران
	دانشگاه تبریز	استادیار	آقای دکتر فریبرز زارع تهندی	استاد راهنما
	مدرس مدعو	استادیار	آقای دکتر محمد طاهر حلاجیان	استاد راهنمای همکار
	پیام نور	استادیار	آقای دکتر محمد علی ابراهیمی	استاد مشاور
	پیام نور	استاد	دکتر غلامرضا بخشی خانیکی	استاد داور
	پیام نور	استاد	دکتر غلامرضا بخشی خانیکی	نماینده گروه/نماینده تحصیلات تکمیلی

اینجانب رعنا معاضدی دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی گواهی می‌نمایم چنانچه در پایان نامه خود از فکر، ایده و نوشته دیگری بهره گرفته‌ام با نقل قول مستقیم یا غیر مستقیم منبع و ماخذ آن را نیز درجای مناسب ذکر کرده‌ام. بدیهی است مسئولیت تمامی مطالبی که نقل قول دیگران نباشد بر عهده خویش می‌دانم و جوابگوی آن خواهم بود.

دانشجو تأیید می‌نماید که مطالب مندرج در این پایان نامه (رساله) نتیجه تحقیقات خودش می‌باشد و در صورت استفاده از نتایج دیگران مرجع آن را ذکر نموده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو: رعنا معاضدی

تاریخ و امضاء ۱۳۹۱/۶/۲۶

اینجانب رعنا معاضدی دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۸ مقطع کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی گواهی می‌نمایم چنانچه براساس 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.

نام و نام خانوادگی دانشجو: رعنا معاضدی

تاریخ و امضاء ۱۳۹۱/۶/۲۶

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

تابستان ۱۳۹۱

تقدیم به:

خالق حق

و با احترام و بوسه بر دستان پدر و مادر دلسوز، مهربان و عزیزم
به خواهر و برادرهای گلم

به استاد ارجمند و گرانقدرم جناب دکتر فریبرز زارع نهندی

و به تمام عزیزانی که اینجانب را صمیمانه یاری کردند.

تشکر و قدردانی

قُلِ الْحَقُّ وَ إِن كَانَ فِيهِ هَلَاكُكَ فَإِنَّ فِيهِ نَجَاتُكَ... إِنَّ اللَّهَ وَ دَعِ الْبَاطِلَ وَ إِن كَانَ فِيهِ نَجَاتُكَ فَإِنَّ فِيهِ هَلَاكُكَ؛

حق را بگو اگر چه نابودی تو در آن باشد، زیرا که نجات تو در آن است... تقوای الهی پیشه کن و باطل را فرو گذار هر چند [به ظاهر] نجات تو در آن باشد، زیرا که نابودی تو در آن است.

تحف العقول، ص ۴۰۸

خداوند بزرگ و مهربان را بسیار سپاسگزارم که در تمام مراحل مختلف زندگی مرا یاری کرده است و تنهایی نگذاشته است. اکنون که با یاری، عنایت و کرامت خالق دانش و معرفت مراحل اجراء، تدوین و نگارش این پایان نامه به اتمام رسیده است بر خود لازم و واجب می دانم مراتب قدردانی و سپاس خودم را از تمام افراد محترمی که در مراحل مختلف این پژوهش مرا یاری نمودند اعلام نمایم.

از استاد بسیار گرانقدر، بزرگوار و مهربان، دانشمند و معلم اخلاق، جناب آقای دکتر فریبرز زارع نهندی که زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده داشتند، صادقانه قدردانی و تشکر می نمایم.

از استاد محترم جناب آقای دکتر محمد طاهر حلاجیان به خاطر راهنمایی و حمایتشان تشکر می نمایم.

از استاد بزرگوار، گرامی و محترم جناب آقای دکتر محمد علی ابراهیمی که زحمت مشاوره این تحقیق را بر عهده داشتند، نهایت قدردانی و سپاس را دارم.

از استاد محترم و بزرگوار، جناب آقای دکتر غلامرضا بخشی خانیکی که زحمت داوری پایان نامه مرا بر عهده گرفتند، صمیمانه قدردانی و تشکر می نمایم.

از جناب آقای مهندس یونس مهدوی به خاطر تهیه و جمع آوری نمونه ها قدردانی و کمال سپاس را دارم.

از تمامی کارکنان بویژه بخش کشیک پژوهشکده کشاورزی، پزشکی و صنعتی انرژی اتمی کرج، اساتید و کارکنان دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان به خاطر همکاری در طی مراحل مختلف انجام این تحقیق، کمال سپاس و تشکر را دارم.

از مسئول آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور تهران سرکار خانم مهندس رحیمی و مسئول آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان جناب آقای مهندس عشایری و دوستان بسیار مهربانم خانم ها: زینب ناظمی، میترا جامی، الهه السادات امینی، شیرین کلاهی، سپیده جمالی، فاطمه دولت شاه و دیگر افراد محترمی که در مراحل مختلف انجام این پایان نامه مرا یاری نمودند صمیمانه قدردانی و تشکر می نمایم.

ارزیابی روابط خویشاوندی برخی ژنوتیپ‌های بومی شمال ایران با برخی از ارقام تجارتي گلابی آسیایی (*Pyrus pyrifolia* Nakai.) با استفاده از نشانگرهای

ریزماهواره

چکیده:

گلابی آسیایی *Pyrus pyrifolia* Nakai از شرق آسیا منشأ گرفته است و عمدتاً در کشورهای جنوب شرقی آسیا کشت و کار می‌شود. گلابی‌های آسیایی دارای ویژگی‌های مهم از جمله میوه شیرین، ترد، آبدار، بافت کمتر سنگی و ماندگاری بالا در انبار نسبت به انواع گلابی اروپایی هستند. همچنین این ارقام از پتانسیل بالایی برای تولید میوه برخوردار هستند و امروزه مورد توجه تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان در سراسر دنیا قرار گرفته است.

از جنگل‌های شرق گیلان (چابکسر) ژنوتیپ‌هایی یافت شده است که از نظر خصوصیات مورفولوژیک بسیار شبیه به گلابی آسیایی هستند. به علاوه در این ژنوتیپ‌ها صفات مهم و با ارزش زراعی از جمله اندازه‌ی درشت و کیفیت بالای میوه ملاحظه می‌شود.

در این پژوهش برای ارزیابی روابط خویشاوندی این ژنوتیپ‌ها با ارقام تجارتي گلابی آسیایی (KS6, KS7, KS8, KS9, KS10, KS11, KS12, KS13, KS14)، از ۱۱ نشانگر ریزماهواره استفاده شد. این نشانگرها در ۱۹ ژنوتیپ مورد مطالعه جمعاً ۵۶ آلل تولید کردند که به طور میانگین برای هر مکان ریزماهواره ۵ آلل به دست آمد. کمترین و بیشترین تعداد آلل مشاهده شده به ترتیب ۲ و ۱۰ عدد بود.

تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA، ۱۹ ژنوتیپ مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های ۱۱۱ چابکسر، ۲۴ چابکسر، قاسم نژاد، حاجی صادقی، حاجی مرادی، حاجی علیپور، حاجی بابایی، گروه دوم شامل ارقام تجارتي KS و گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های سبز، آبی و ریز بود. بر اساس نمودار درختی ترسیم شده، گروه اول و دوم به عنوان گلابی‌های آسیایی و گروه سوم به عنوان هیبریدی از گلابی آسیایی و اروپایی شناخته شدند.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌تواند تا حدودی نشان دهنده حضور گلابی آسیایی و یا خویشاوندان بسیار نزدیک آن در شمال ایران باشد و با توجه به یافته‌های حاصل لازم است اقدامات جدی برای حفاظت و ثبت ذخایر ژنتیکی با ارزش گلابی شمال ایران صورت گیرد.

کلمات کلیدی: گلابی آسیایی، روابط خویشاوندی، نشانگر ریزماهواره، شمال ایران

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول: کلیات تحقیق

- ۲-۱-۱- مقدمه ۲
- ۲-۱-۲- اهداف اصلی پژوهش ۴

فصل دوم: مبانی نظری و پیشینه تحقیق

- ۲-۱-۱- تاریخچه و منشاء پیدایش ۷
- ۲-۲- گیاه‌شناسی گلابی ۸
- ۲-۳- سلول‌شناسی و مشخصات کروموزومی ۹
- ۲-۴- ترکیبات غذایی و موارد مصرف ۹
- ۲-۵- میزان تولید و سطح زیر کشت ۱۲
- ۲-۶- اهمیت ارزیابی روابط خویشاوندی ۱۴
- ۲-۷- نشانگرهای ژنتیک ۱۵
- ۲-۸- انواع نشانگرهای ژنتیک ۱۶
- ۲-۸-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ۱۶
- ۲-۸-۲- نشانگرهای پروتئینی ۱۶
- ۲-۸-۳- نشانگرهای DNA ۱۷
- ۲-۹- ردیف‌های تکرار شونده ۱۹
- ۲-۹-۱- DNA ماهواره‌ای ۲۰
- ۲-۹-۲- ماهوارک‌ها ۲۰
- ۲-۹-۳- ریزماهواره‌ها ۲۰

۲۳	۱۰-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)
۲۴	۱-۱۰-۲- مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۲۴	۱-۱-۱۰-۲- واسرشته‌سازی
۲۴	۲-۱-۱۰-۲- اتصال آغازگرها
۲۵	۳-۱-۱۰-۲- سنتز
۲۵	۴-۱-۱۰-۲- تکمیل سنتز DNA
۲۶	۲-۱۰-۲- مواد مورد نیاز برای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۲۶	۱-۲-۱۰-۲- DNA الگو
۲۶	۲-۲-۱۰-۲- آغازگر
۲۷	۳-۲-۱۰-۲- آنزیم Tag DNA پلیمرز
۲۸	۱۱-۲- مطالعه فرآورده‌های PCR
۲۹	۱۲-۲- الکتروفورز
۲۹	۱-۱۲-۲- ژل آگارز
۳۰	۲-۱۲-۲- ژل پلی‌اکریلامید
۳۰	۱-۲-۱۲-۲- پلی‌اکریلامید غیر واسرشت‌کننده
۳۰	۲-۲-۱۲-۲- پلی‌اکریلامید واسرشت‌کننده
۳۱	۱۳-۲- سابقه کاربرد نشانگرهای ژنتیکی در گلابی

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳۶	۱-۳- نمونه‌برداری
۳۸	۲-۳- استخراج DNA ژنومی
۳۸	۱-۲-۳- مراحل استخراج DNA ژنومی
۴۱	۲-۲-۳- تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراجی

۴۱	۳-۲-۱- روش الکتروفورز ژل آگارز
۴۲	۳-۲-۲- روش اسپکتروفوتومتریک
۴۲	۳-۳- آغازگرهای SSR
	۳-۱- بهینه سازی واکنش PCR برای آغازگرهای SSR
۴۳	و انتخاب جفت آغازگرهای مناسب
۴۵	۳-۲- انجام واکنش PCR با آغازگرهای SSR
۴۸	۳-۴- الکتروفورز محصول PCR
۴۸	۳-۴-۱- آماده سازی نمونه ها جهت تزریق در چاهک
۴۸	۳-۴-۲- تهیه ژل پلی اکریلامید
۵۰	۳-۵- رنگ آمیزی نیترات نقره
۵۲	۳-۶- تفسیر ژل ها و تجزیه آماری داده ها

فصل چهارم: نتایج و بحث

۵۴	۴-۱- ارزیابی کیفیت و کمیت DNA ژنومی استخراج شده
۵۵	۴-۲- قابلیت تکثیر پذیری نشانگرهای SSR مورد استفاده
۵۸	۴-۳- آنالیز داده های حاصل از نشانگر مولکولی SSR
۶۵	۴-۳-۱- تجزیه کلاستر
۶۶	۴-۳-۲- ضریب همبستگی کوفاکتیک
۶۷	۴-۳-۳- تشابه ژنتیکی
۶۷	۴-۴- تجزیه به مختصات اصلی (PCO)
۶۹	۴-۵- جمع بندی و نتیجه گیری کلی
۷۰	۴-۶- پیشنهادها
۷۲	منابع

فهرست شکل‌ها

صفحه

عنوان شکل

-
- | | |
|----|--|
| ۱۳ | شکل ۲-۱- سهم تولید کشورهای مهم و تولید کننده گلابی در سال ۲۰۱۰ |
| ۲۲ | شکل ۲-۲- نمای شماتیک ریزماهواره‌ها |
| ۲۵ | شکل ۲-۳- نمودار چرخه‌های حرارتی PCR |
| ۵۵ | شکل ۴-۱- الکتروفورز DNA ژنومی استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰/۷٪ |
| ۵۷ | شکل ۴-۲- الکتروفورز محصولات PCR حاصل از برنامه گرادیان دمایی |
| ۵۸ | شکل ۴-۳- الکتروفورز محصولات PCR تمام نمونه‌های DNA تکثیر شده |
| ۶۱ | شکل ۴-۴- الگوی بانندی تولید شده به وسیله نشانگر NH014a |
| ۶۶ | شکل ۴-۵- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۹ ژنوتیپ مورد مطالعه |
| ۶۸ | شکل ۴-۶- الگوی تنوع ۱۹ ژنوتیپ مورد مطالعه بر اساس تجزیه به مختصات اصلی |

فهرست جداول

صفحه

عنوان جدول

۱۱	جدول ۱-۲- مقدار ترکیب غذایی در هر ۱۰۰ گرم میوه گلابی آسیایی و اروپایی
۳۷	جدول ۱-۳- مشخصات ژنوتیپ های گلابی مورد استفاده در پژوهش حاضر
۴۰	جدول ۲-۳- کاربرد مواد مورد استفاده در استخراج DNA ژنومی
۴۴	جدول ۳-۳- مشخصات کامل جفت آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش
۴۶	جدول ۴-۳- مقدار و نوع مواد مورد استفاده در واکنش PCR
۴۷	جدول ۵-۳- برنامه زمانی PCR برای ۹ جفت آغازگر SSR
۴۹	جدول ۶-۳- مواد تشکیل دهنده ژل پلی اکریل آمید ۴۰٪
۴۹	جدول ۷-۳- مواد تشکیل دهنده ژل پلی اکریل آمید ۶٪ واسرشته شده
	جدول ۱-۴- دامنه اندازه آللی و تعداد آلل های (A) مشاهده شده در نشانگرهای مورد
۶۰	استفاده در این پژوهش
	جدول ۲-۴- مقایسه تعداد آلل های مشاهده شده در ژنوتیپ های بومی با ارقام تجارتي
۶۲	گلابی آسیایی
۶۴	جدول ۳-۴- مقایسه پروفایل نشانگرهای مورد استفاده در این پژوهش با سایر مطالعات

فصل اول

کلیات تحقیق

۱-۱- مقدمه

تاکنون فن آوری و نوآوری‌های گوناگونی در عرصه‌های مختلف علمی به وجود آمده است و همچنان این تحولات به سیر خود ادامه می‌دهند. بشر این پیشرفت‌ها را برای دگرگون ساختن زندگی خویش خلق کرده است. به دنبال این پیشرفت‌ها، خواسته‌ها و نیازهای انسان‌ها نیز تغییر یافته است. به گونه‌ای که تمام انسان‌ها دوست دارند احتیاجات خود را با آنچه که در ذهن تجسم کرده‌اند، مرتفع کنند. محصولات کشاورزی نیز امروز بر اساس نیاز و تقاضای بازار تولید و عرضه می‌شوند به گونه‌ای که استراتژی‌های مختلفی از جانب سیاست‌گذاران بخش کشاورزی طراحی شده است. دانشی که هم اکنون به عنوان یک استراتژی در جهت ایجاد تغییرات متناسب با احتیاجات جامعه پایه‌ریزی شده است، علم بیوتکنولوژی می‌باشد. کیومر^۱ (۱۹۹۹) علم بیوتکنولوژی را به این صورت تعریف کرده است: هر گونه استفاده از موجودات زنده برای ایجاد یک فرآورده و یا تغییر یک محصول، بهبود حیوان و گیاه و یا ایجاد ریزسازواره‌ها^۲ برای استفاده بشر و بهبود رفاه وی بیوتکنولوژی نام دارد (نقوی و همکاران، ۱۳۸۸). بسیاری از دولت‌مردان و دانشمندان، این علم نوین را علاج نیازهای غذایی جمعیت رو به افزایش جهان دانسته‌اند. پس از پایه‌گذاری این علم، تحولات شگفت‌انگیزی نیز در عرصه تولید و بازار رسانی محصولات کشاورزی به وجود آمد. به‌نژادگران و مهندسان ژنتیک همواره در جهت بهبود خصوصیات مثلاً مقاومت به بیماری‌ها یا تنش‌های محیطی، عملکرد، کیفیت محصول، فنوتیپ و مواردی از این دست گام بر می‌دارند. در چنین مواردی اگر بیوتکنولوژی با اصلاح نباتات پیوند یابد، اصلاحگر احتمالاً در کمترین زمان به هدف خود دست خواهد یافت. اصلاح نباتات به عنوان علم بهبود ژنتیکی گیاهان شناخته شده است و نقش عمده‌ای در بهبود گیاهان از نظر کمیت و کیفیت دارد. در گذشته‌های گذشته گیاهان بر اساس خصوصیات ظاهری، مهم‌ترین ابزار برای اصلاح گیاهان بوده است، ولی امروزه خصوصیات مورد توجه از لحاظ ژنتیکی و مولکولی تجزیه و تحلیل می‌شوند و اطلاعات حاصل از مطالعات مولکولی، زمینه را برای طراحی یک برنامه

¹ Kumar

² Micro-organism

اصلاحی مطمئن میسر می‌سازد. گیاهان از نظر صفات مختلف با هم متفاوت هستند، این تفاوت‌ها را می‌توان در بین و داخل یک گونه گیاهی با بررسی فنوتیپ گیاهان تشخیص داد و با اطلاعات حاصل از این مشاهده، گیاهان را از یکدیگر متمایز نمود. ولی گاهی اوقات تفاوت‌ها را نمی‌توان در فنوتیپ گیاهان جستجو کرد و تنها با مطالعه مولکولی می‌توان تفاوت آن‌ها را آشکار نمود.

تنوع ژنتیکی ناشی از تغییر توالی DNA در ژنوم موجودات زنده است که به عنوان عامل مهم در تکامل گیاهان و جانوران شناخته شده است. گاهی اوقات تظاهر برخی از صفات تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی و مرحله نموی گیاه قرار می‌گیرد که دسترسی به تنوع و چند شکلی طبیعی صفات را محدود می‌کند. بنابراین تشخیص صفات بر اساس خصوصیات ظاهری موثر نخواهد بود. بر همین اساس ارزیابی قرابت ارقام^۱ و واریته‌های گیاهی (روابط خویشاوندی) با مشکل مواجه خواهد شد، چون ممکن است دو یا چند رقم یا واریته از لحاظ ویژگی‌های ظاهری شباهت‌هایی با هم داشته باشند، اما زمینه ژنتیکی آن‌ها متفاوت باشد. در این صورت شناسایی روابط خویشاوندی و طبقه‌بندی گیاهان بر اساس مطالعات مولکولی سودمند خواهد بود و ارقام مورد نظر با اطمینان کامل شناسایی می‌شوند. بنابراین ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط خویشاوندی گونه‌های گیاهی به وسیله تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی می‌تواند یک برنامه اصلاحی قوی و درست را در اختیار به‌نژادگر قرار دهد.

گلابی عضوی از زیرتیره سیب‌سانان^۲ و پس از سیب مهم‌ترین محصول تجاری زیر گروه میوه‌های دانه‌دار به شمار می‌آید (الیویرا^۳ و همکاران، ۱۹۹۹). رقم‌های گلابی تجاری مورد کشت به دو تیپ شرقی و اروپایی تقسیم می‌شوند (بل^۴ و همکاران، ۱۹۹۰). به عقیده اکثر دانشمندان رقم‌های شرقی گلابی از گونه‌های که بومی شرق دور است به دست آمده‌اند و اصطلاحاً به آن‌ها گلابی‌های شنی ژاپنی^۵ می‌گویند (منیعی، ۱۳۷۹). ویژگی عمده آن‌ها مزه شیرین و بافت ترد همراه با مقدار زیادی سلول‌های سنگی (یاخته‌های اسکلوئیدی) در میوه است. اما گلابی‌های اروپایی ترکیب بافت کره

¹ Cultivars

² Pomoideae

³ Oliveira

⁴ Bell

⁵ Jpanease sand pears

مانندی دارند و مزه و عطر خوشایند از ویژگی‌های این دسته می‌باشد (بل و همکاران، ۱۹۹۰؛ عطار، ۱۳۸۰).

گلابی را می‌توان بر حسب ارقام موجود به محصولات مختلفی تبدیل کرد، مانند کمپوت کردن، خشک کردن و عصاره‌گیری، در این صورت از ضایعات آن جلوگیری به عمل می‌آید. تهیه کمپوت گلابی متداول‌تر از سیب است و حتی تقاضا برای خرید کمپوت گلابی بیشتر از سیب می‌باشد (منیعی، ۱۳۷۹). دیگر خواص و ارزش تغذیه‌ای گلابی به طور کامل در فصل دوم شرح داده شده است.

۱-۲- اهداف اصلی پژوهش

گلابی آسیایی به عنوان یکی از گونه‌های با ارزش از تازه خوری‌های دانه‌دار، عمدتاً در کشورهای جنوب شرقی آسیا مانند چین، ژاپن، کره و تایوان کشت می‌شود. در ایران بیشترین سطح کشت گلابی به ارقام اروپایی و ارقام بومی اختصاص یافته و تاکنون هیچ اثری از کشت و کار گلابی آسیایی گزارش نشده است. لیکن اخیراً ژنوتیپ‌هایی از جنگل‌های بکر شمال ایران یافت شده است که احتمال می‌رود از نوع گونه گلابی آسیایی^۱ باشند. در این ارتباط برای شناسایی و تعیین موقعیت ژنتیکی آن‌ها در بین گلابی‌ها، از ارقام شناخته شده و تجارتي گونه مورد نظر استفاده شد. انتخاب ارقام تجارتي آسیایی فوق‌الذکر به این دلیل بوده است که اگر ژنوتیپ‌های بومی شمال کشور رابطه ژنتیکی نزدیکی با ارقام تجارتي داشته باشند می‌توان از آن‌ها به دلیل دارا بودن برخی صفات با ارزش از جمله اندازه درشت میوه و مقاومت نسبی به بیماری باکتریایی آتشک گلابی نسبت به ارقام تجارتي آسیایی در برنامه‌های اصلاحی آتی استفاده کرد. لازم به یادآوری است که در یکی از روش‌های اصلاحی گیاهان موسوم به اصلاح ژنتیکی ارقام از طریق تلاقی بین گونه‌ای، سخت‌ترین و پرهزینه‌ترین مرحله، انتخاب والدین مناسب جهت تلاقی می‌باشد. بنابراین با اطلاعات حاصل از این پژوهش می‌توان با اطمینان بالا و به راحتی ارقام مورد نظر را برای برنامه اصلاحی انتخاب نمود.

¹ *Pyrus prifolia* Nakai.

به دلیل تنوع مورفولوژیکی محدود، تلاقی بین گونه‌ای و وجود دورگه‌های بین گونه‌ای، ارزیابی روابط خویشاوندی و شناسایی ارقام و گونه‌های گلابی مشکل می‌باشد، ضمن این که با توجه به وجود دوره نونهالی طولانی، ارزیابی نتاج سال‌ها وقت نیاز دارد. بنا به این دلایل، نشانگرهای مورفولوژیکی یا به بیان دیگر خصوصیات ظاهری صفات برای شناسایی گونه‌ها و ارقام گلابی کارآمد نیستند. بنابراین در پژوهش حاضر از نشانگر مولکولی ریزماهواره (SSR) برای شناسایی ژنوتیپ‌های ناشناخته شمال ایران استفاده شد. علت به کارگیری نشانگر فوق برای ارزیابی روابط خویشاوندی گیاهان مورد نظر، اختصاصی بودن نشانگرهای ریزماهواره و پتانسیل بالای آن‌ها در کشف مستقیم تفاوت‌های ژنتیکی برای شناسایی ارقام است. این نشانگر کارآمد، علاوه بر مزایای فوق مزیت‌های دیگری نیز دارد که در فصول بعدی به آن اشاره خواهد شد.

با توجه به موارد فوق اهداف اصلی پژوهش به شرح زیر می‌باشد:

- تعیین روابط خویشاوندی ارقام تجارتي گلابی آسیایی (*P. pyrifolia* Nakai) با ژنوتیپ های بومی شمال ایران.
- تعیین یک اثر انگشت مولکولی مختص به گلابی‌های آسیایی بومی شمال ایران.
- امکان ثبت ژنوتیپ‌های شمال به عنوان ارقام ایرانی در UPOV .
- تعیین قرابت و فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های ایرانی با انواع خارجی جهت استفاده در برنامه‌های آتی اصلاح.

فصل دوم

مبانی نظری و پیشینه تحقیق

۲-۱- تاریخچه و منشأ پیدایش

نام گلابی^۱ از واژه یونانی پیرا^۲ گرفته شده است (جنیک^۳، ۲۰۰۲). این گیاه بومی مناطق معتدل اروپا و مناطق معتدل و نیمه گرمسیری آسیا می باشد و در بیش از پنجاه کشور معتدله دنیا رشد و پرورش می یابد (جنیک و همکاران، ۲۰۰۸؛ بل، ۱۹۹۰). بسیاری از گیاه شناسان احتمال می دهند که جنس پیروس^۴ در مناطق کوهستانی غرب و جنوب غربی چین و در طی دوره ترشیاری^۵ (۶۵-۵۵ میلیون سال پیش) تکامل یافته و سپس به شرق و غرب گسترش پیدا کرده است. ان. آی. واولوف^۶ (۱۹۵۱) دانشمند روسی برای گلابی سه مرکز تنوع مشخص کرده است: چین، آسیای صغیر (خاور نزدیک) و آسیای مرکزی. احتمال می رود مرکز خاور نزدیک، مکان پیدایش ارقام اهلی گونه *p. communis* باشد. از نظر اکثر گیاه شناسان این گونه از اختلاط یک گونه وحشی بومی قفقاز به نام *p. caucasica* با گونه وحشی دیگری به نام *p. nivalis* به وجود آمده است (جنیک و همکاران، ۲۰۰۸؛ منیعی، ۱۳۷۹).

کشت و کار گلابی در دنیا سابقه طولانی دارد به طوری که به نظر می رسد در دوران ماقبل تاریخ، اولین رقم اهلی از انواع وحشی گزینش شده باشد. قبل از میلاد مسیح، فنیقی های باستان، یهودیان و رومیان چندین رقم اهلی یا اصلاح شده گلابی را کشت می دادند (کتاب مرجع گیاهان سبزی و میوه، صفحه ۴۰۲). اولین گزارشی که نشان دهنده قدمت زیاد کشت گلابی در قاره اروپا است، حدود ۱۰۰۰ سال قبل از میلاد در یونان توسط هومر^۷ نوشته شده و در آن از گلابی به عنوان یکی از نعمت های خداوند و همچنین یکی از میوه های باغ آلسینوس^۸ یاد شده است. کشت و پرورش گلابی در زمان تئوفراسچوس^۹ (۳۱۰-۲۸۶ سال قبل از میلاد مسیح) در یونان به طور چشمگیری رونق داشت. در آن زمان تمام ارقام به روش قلمه و پیوند زدن تکثیر می شدند. در قرن هجدهم نیز گام گام-

¹ Pear

² Pera or pira

³ Janick

⁴ Pyrus

⁵ Tertiary

⁶ N.I. Vavilov

⁷ Homer

⁸ Alsinous

⁹ Theophrastus

گام‌های بلندی توسط اصلاح‌گران کشورهای بلژیک و فرانسه در جهت گزینش ارقام گوشتی - کره- ای مانند Beurre Bosc و Doyenne du comice برداشته شد. کشت گلابی در کشور چین نسبت به سایر کشورهای قاره آسیا دارای سابقه طولانی‌تری است. به طوری که بیش از ۲ هزار سال است که گلابی در این کشور کشت و کار می‌شود. در حدود ۳۳۰۰ سال پیش چینی‌ها از جمعیت‌های وحشی ارقامی را که دارای میوه خوراکی بودند، گزینش کردند (کیکوچی^۱، ۱۹۴۶؛ جنیک و همکاران، ۲۰۰۸).

۲-۲- گیاه‌شناسی گلابی

گلابی متعلق به جنس *Pyrus*، طایفه *pomea* زیرتیره *Maloideae* (یا *Pomoideae*) و تیره *Rosaceae* می‌باشد. در این جنس علاوه بر ۲۲ گونه اولیه که بومی آسیا، اروپا و مناطق کوهستانی شمال آفریقا می‌باشند، شش دو رگه بین گونه‌ای طبیعی و سه دو رگه مصنوعی نیز شناخته شده است (بل و همکاران، ۱۹۹۶؛ هیومل^۲ و همکاران، ۲۰۰۰).

مشخصات گیاه‌شناسی گلابی به شرح زیر می‌باشد:

درختان، خزان‌کننده و به ندرت همیشه سبز، برگ‌ها، اره‌ای و مژرس هلالی با کناره صاف یا به ندرت کنگره‌ای و دمبرگ‌ها دارای گوشوارک بوده و گل‌ها به صورت خوشه‌ای چتر مانند، به رنگ سفید و به ندرت مایل به صورتی، همزمان با برگ‌ها یا قبل از برگ ظاهر می‌شوند. کاسبرگ‌ها، به عقب برگشته یا گسترده، گلبرگ‌ها، با قاعده دمبرگ مانند و تا حدودی مدور تا مستطیلی پهن، پرچم‌ها ۲۰ الی ۳۰ عدد، بساک‌ها قرمز یا ارغوانی، خامه ۵-۲ عدد، آزاد و در قاعده به وسیله دیسک یک جا جمع می‌شوند، تخمک‌ها ۲ عدد در هر خانه، میوه پوم‌کروی یا گلابی شکل، گوشت میوه دارای سلول‌های سنگی، دیواره خانه‌ها غضروفی و دانه‌ها سیاه یا تقریباً سیاه می‌باشند (رسول‌زادگان، ۱۳۷۵).

¹ Kikuchi

² Hummel