وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

موسسه تحقیقات علوم باغبانی و پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان دستنامه:

گرده افشانی و تلقیح گل در ارقام تجارتی بادام

تالیف:
علی ایمانی عضو هیئت علمی پژوهشکده میوه هاي معتدله وسردسیري
مهرشاد زین العابدینی عضو هیئت علمی پژوهشگاه بیوتکنولوژي کشاورزي

سال ۱۳۹۶

نام دستنامه: گرده افشانی و تلقیح گل در ارقام تجارتی بادام

نگارندگان: علی ایمانی و مهرشاد زین العابدینی

ویراستاری علمی و ادبی: رحیم قره شیخ بیات

- **ناشر**: موسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری
- **شماره دستنامه:**
- **شمارگان:** الکترونیکی
- **تعداد صفحات: ۴۹**
- **زبان متن:** فارسی
- **تاریخ انتشار:** ۱۳۹۷

پست الکترونیکی:

(این دستنامه فنی در تاریخ ۱۳۹۶/۱۲/۲۰ در شورای انتشارات پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری مورد تایید و به شماره .۵۳۷۷۳ مورخ۱۳۹۷/۳/۲۷ در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی ثبت شده است)

نشانی: کرج، جاده محمدشهر، شهرک نهال و بذر، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری

تلفن: ۰۲۶-۳۶۷۰۲۵۴۱ **دورنگار**: ۰۲۶-۳۶۷۰۰۹۰۸ **وب‌گاه**: WWW.HSRI.IR

مخاطبان دستنامه:

- محققان و کارشناسان باغبانی
- دانشجویان رشته باغبانی
- کارشناسان و مروجان ترویج و آموزش کشاورزی
- بهره برداران و سایر علاقمندان به مباحث مدیریت گرده افشانی در ارقام مهم بادام در ایران

اهداف آموزشی دستنامه:

شما خوانندگان گرامی در این نشریه با:

۱- مسایل مربوط به گرده افشانی بادام و

۲- خصوصیات ارقام مهم بادام کشور

آشنا خواهید شد.

فصل اول مقدمه	۵
فصل دوم- گل انگیزی و گلدهی در بادام	۷
محل تشکیل گل	۸
زمان گل‌انگیزی و گلدهی در بادام	۷
نقش زنبور عسل در گرده افشانی وافزایش کمی وکیفی محصول	۱۱
لزوم رعایت موارد کاربرد سموم شیمیایی، ترغیب باغداران برای کنترل تلفیقی و بیولوژیک برای حفاظت زنبور های عسل در فرایند گرده افشانی	۱۲
گرده افشاني	۱۳
اهمیت ارقام گرده زا در تشکیل و تولید میوه بادام	۱۶
خصوصیات لازم برای ارقام گرده زا در باغ های بادام	۱۷
میوه‌دهی	۱۹
تشکیل میوه	۱۷
دوره رشد و رسیدن میوه	۲۱
ریزش گل و میوه	۲۲
شاخص رسیدن میوه	۲۳
سال آوری	۲۳
فصل سوم- خودسازگاری/خودناسازگاری: روش های بررسی آن	۲۴
روش های متداول(کلاسیک)	۲۴
گرده افشانی کنترل شده وتعیین درصد تشکیل میوه	۲۲
انجام تلاقی کنترل شده و تعقیب میکروسکوپی لوله گرده	۲۵
روش های مولکولی تعیین خودناسازگاری	۲۷
تعیین آللهای خود ناسازگاری به روش PCR	۲۸
اهمیت شناسایی آلل های خودسازگاری و خودناسازگاری	۳۰
شناسایی ژنوتیپ خودناسازگاری به روش توالی‌یابی	۳۱
آغازگرهای مورد استفاده درشناسایی آلل های S در بادام	۳۲
آغازگرهای اختصاصی	۳۲
آغازگرهای عمومی	۳۳
آغازگرهای دژنره	
مزایای اقتصادی استفاده از تلفیق روش های کلاسیک ، بیولوژیکی و مولکولی برای بهره مندی در مدیریت گرده افشانی	۴۰
فصل چهارم- آشنایی با ارقام تجاری بادام مورد کشت در ایران	۴۰
ارقام بادام معرفی شده و خصوصیات آنها	۴۰
منابع مورد استفاده	۴۶

فصل اول- مقدمه

بادام یکی از مهمترین محصولات باغبانی کشور است که به علت داشتن ویژگی های منحصر به فرد از جمله کارایی بالا در مصرف آب و تولید میوه، نقطه اشباع نوری بالا، منحنی خاص رشد میوه، وجود خاصیت تطابق اسمزی در برگ ها، مورفولوژی ویژه برگ و میوه و سیستم ریشه بندی قوی و عمودی می تواند در شرایط نامساعد خاک از جمله خاک های آهکی و سنگلاخی و با کمی رطوبت به حیات خود ادامه دهد. از اینرو، از بادام به عنوان یک درخت مقاوم به خشکی یا متحمل در برابر کم آبی نام برده می شود(ایمانی، ۱۳۷۹). با توجه به قرار گرفتن ایران در منطقه خشک و نیمه خشک و کمبود آب در ایران و نیز سهولت برداشت، حمل و نگهداری محصول واشتغال زایی بالا در تولید و فرآوری بادام، این گونه از دیرباز مورد توجه باغداران ایران بوده است. بنابراین کشت و پرورش بادام در ایران قدمت دیرینه داشته و کشور ما از دیرباز یکی از قطب های اصلی تولید بادام در دنیا به شمار می رود. علاوه بر سطح زیر کشت بالای بادام در کشور، ظرفیت های بالقوه ای جهت توسعه مناطق کشت آن وجود دارد. لذا توسعه کاشت و تولید این محصول باید مطابق با استانداردهای جهانی باشد تا بتوان در رقابت شدید بازارجهانی جایگاه ایران را حفظ نمود. برای این منظور اولین گام در احداث باغ های بادام، شناخت مسایل مربوط به نیازهای اکولوژیکی ارقام و دانش فنی کشت و پرورش آن است تا حداکثر بهره وری لازم برای تولید اقتصادی به دست آید. در این صورت می توان به ایجاد رونق اقتصادی و اشتغال زایی در صنعت تولید و فرآوری بادام در کشور امیدوار بود(ارجمند و همکاران،۲۰۱۴).

در این راستا، شناسایی عوامل کلیدی و آگاهی از فرآیند های تاثیرگذار در تشکیل و تکامل جوانه های گل، با هدف بهینه سازی بارآوری سالانه تولید در باغ، حائز اهمیت می باشد. با توجه به اینکه عمده فرآیند های مرتبط با نمو در مرحله بلوغ رویشی صورت گرفته و گلدهی در اکثر ارقام بادام در سن ۳ تا ۴ سالگی و پس از گذر از فاز رویشی به فاز زایشی رخ می دهد، مطالعه فرآیندهای مرتبط با گلدهی و باروری درختان به منظور بهینه سازی دانش فنی کشت و تولید می تواند در بالا بردن بهره وری اقتصادی تولید مفید باشد.

• مرحله نونهالی: بر اساس تعریف، نونهالی یکی از مراحل فیزیولوژیک است که در طی آن امکان ایجاد گل انگیزی و گلدهی در نهال وجود ندارد. طول مدت این مرحله در بادام بسته به عوامل محیطی و ژنتیکی ممکن است خیلی کوتاه و یا طولانی بوده و ویژگی های نونهالی در تمام بافت های نونهال تا زمان رسیدن به مرحله انتقالی باقی می ماند. علاوه بر عدم توانایی گلدهی درختان نونهال بادام، برخی از خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک دیگر نیز مانند پائین بودن مقدار RNA در بافت ها، برگ های کوچک، پرپشت و در مواردی همراه با خار در این مرحله مشاهده شده است. انجام پیوند درختان بالغ بر روی نهال ها می تواند طول دوره نونهالی را کاهش دهد. البته، طول دوره نونهالی به عوامل دیگری نظیر شدت سایه، روش هرس و استفاده از کودها نیز بستگی دارد. ارقامی مانند تونو[۱]، مارکونا[۲]، فرانیس[۳]، تگزاس[۴]، نون پاریل[۵] و پرلس[۶] و رقم ایرانی ربیع در سن ۳ تا ۴ سالگی به گل می روند. در ارقام دیگر مانند بارتر[۷]، داوی[۸] و کاپاریل[۹] رسیدن به مرحله گل دهی بیش از ۵ سال به طول می انجامد.

• مرحله انتقال: بافت های در حال انتقال عموماً بین قسمت های کاملاً جوان و بالغ ساقه درختان بذری یافت می شود و از جمله ویژگی های این مرحله، وجود برخی از خصوصیات نونهالی و بلوغ است. فاصله زمانی بین مرحله نونهالی و بلوغ عمدتاً به سرعت رشد درخت و حداقل اندازه لازم برای رسیدن به بلوغ بستگی دارد.

•گلدهی: درختان بادام پس از رسیدن به مرحله بلوغ وارد فاز زایشی–گلدهی می شوند. گل های بادام کامل بوده و دارای ۵ کاسبرگ، ۵ گلبرگ به رنگ سفید یا صورتی با تعداد ۱۰ الی ۴۰ عدد پرچم و معمولاً یک مادگی هستند(کستر و آسی ۱۹۷۵، سوسیاز آی کمپانی و همکاران ۲۰۱۷).

---

[1] Tuono
[2] Marcona
[3] Ferranis
[4] Texas
[5] Non Pareil
[6] Peerless
[7] Bartre
[8] Davey
[9] Kapareil

فصل دوم- گل انگیزی و گلدهی در بادام

محل تشکیل گل

انگیزش جوانه گل در بادام به صورت جانبی و بر روی سیخک (اسپور) و شاخه های قوی سال جاری (یک ساله) و یا مخلوط(اسپور و یک ساله) صورت می گیرد (شکل ۱). صرف نظر از عادت باردهی ارقام مختلف بادام، عموماً با افزایش سن و کاهش قدرت درخت، نسبت گل ها بر روی اسپورها افزایش می یابد.

همان طور که پیش از این اشاره شد، جوانه های گل بادام به صورت جانبی در محور برگ ها روی شاخه های طویل و اسپورهای کوتاه تولید می شود. بطور معمول از هر جوانه یک گل منفرد حاصل می شود، ولی در برخی از ارقام مانند تونو تشکیل دو گل از یک جوانه نیز مشاهده شده است.

عمر باردهی اسپورهای بادام تقریباً ۵ سال است. بنابراین به منظور تحریک تولید شاخه های جدید، گل دهی بالا و پیوسته و نهایتاً افزایش محصول، انجام هرس سالانه صحیح و علمی درختان بارور بادام، ضروری است(ایمانی ۱۳۷۶، رسول زادگان ۱۳۷۰).

شکل ۱. فرم های مختلف عادت باردهی در بادام(ایمانی وهمکاران، ۱۳۹۳)

زمان گل‌انگیزی و گلدهی در بادام

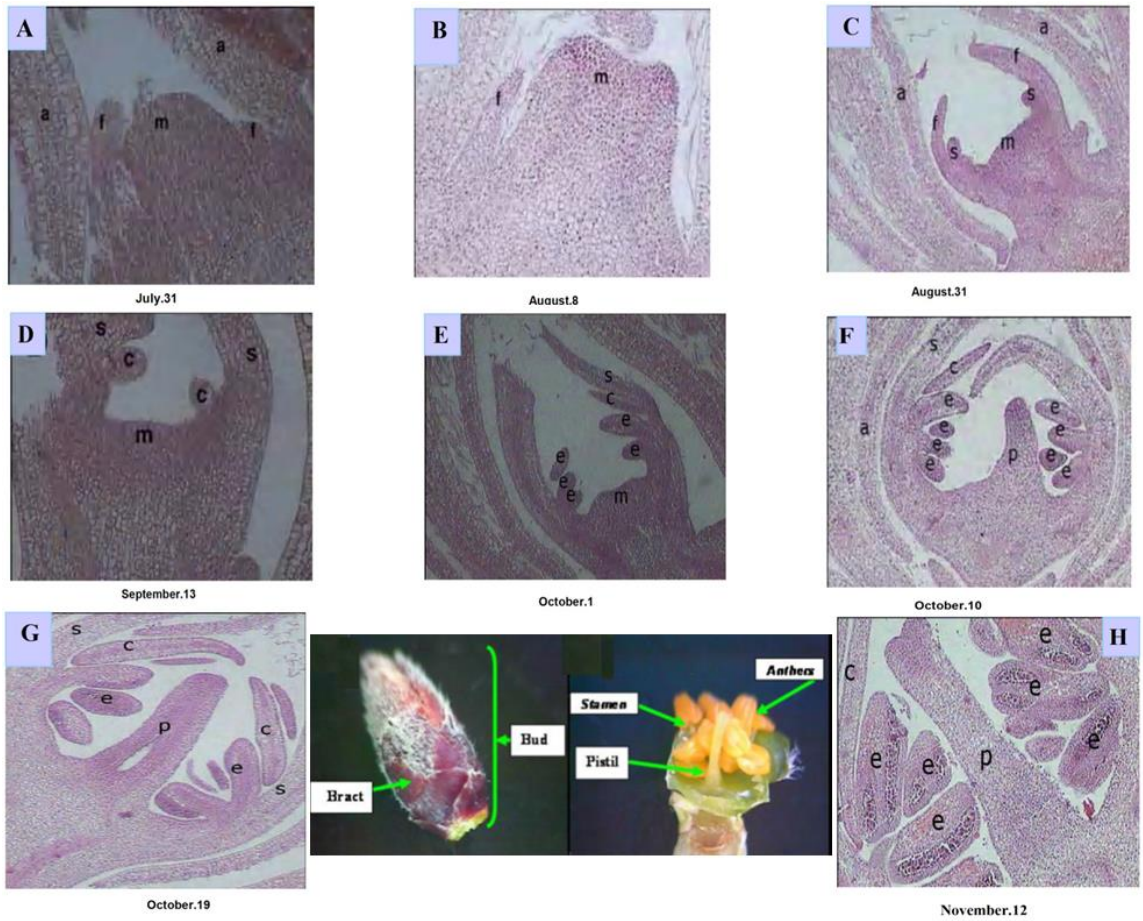
در بادام زمان گل‌انگیزی یا شروع فعالیت اندام زایی (تخت شدن مریستم ها) حدوداً در اواخر مرداد و نیمه اول شهریور ماه اتفاق می افتد و سیر کلی اندام زایی در بیشتر ارقام بین ۷ تا ۸ هفته است. در این زمان نیازها و محرک های درونی و بیرونی جهت تشکیل جوانه گل فراهم و تاثیرگذار می باشد. بطور کلی، تشکیل سرآغازه یا طرح اولیه گل یک تغییر عمده است که سبب ورود درختان بادام از مرحله رویشی به مرحله زایشی می شود. به عبارتی، زمانی که درختان بادام از نظر رشد به سن معینی رسیده باشند، با فراهم شدن نیازهای درونی و بیرونی گیاه، تمایز و تشکیل گل صورت خواهد گرفت. اصولاً تشکیل گل نیازمند تمایز فیزیولوژیک و مورفولوژیک است. معمولاً ۳ الی ۶ هفته قبل از تمایز فیزیولوژیک جوانه های بارور در اکثر ارقام بادام، ترکیبات مختلف از جمله هورمون ها و کربوهیدرات ها از برگ به جوانه ها منتقل شده و متابولیسم RNA افزایش می یابد تا پروتئین های لازم برای تشکیل و تکامل یاخته های جدید تولید کند. همزمان با افزایش اسید ریبونوکلئیک و پروتئین، میزان

تقسیم یاخته ای افزایش یافته و در دوره تمایز مورفولوژیک بعد از تغییرات اساسی در جوانه، قسمت های مختلف گل شکل می گیرد (شکل ۲).

از اینرو، تمایز فیزیولوژیک و مورفولوژیک جوانه های بارور شامل مراحل زیر است:

۱. گل انگیزی[1]: پدیده کیفی بوده و از طریق تغییرات تعادل هورمونی به وقوع می پیوندد. ۲. گل آغازی[2] : به فرآیندی اطلاق می شود که طی آن اثر بازدارندگی ژن های تشکیل دهنده گل متوقف شده و در این مرحله پس از وقوع تغییرات لازم از جمله تولید RNA جدید برای سنتز پروتئین های مورد نیاز یاخته های اولیه گل آغازی و تمایز سلولی صورت می گیرد. این مرحله تغییرات قابل مشاهده نبوده و صرفاً به صورت بیوشیمیایی می باشد. ۳. اختصاصی شدن یا تمایز[3]: در این مرحله قسمتهای مختلف گل تشکیل می شود ۴. نمو یا تشکیل شکوفه گل[4] : در این مرحله یاخته ها به سرعت رشد کرده و قسمت های مختلف گل قبل از دوره رکود زمستانی و در برخی موارد بعد از آن تکامل می یابد. به عنوان نمونه تقسیم میوز معمولاً در طول یک یا دو هفته کامل شده و تشکیل تتراد در اواخر مرحله رکود بادام صورت می گیرد و می تواند بیانگر پایان دوره خواب در جوانه های گل باشد. در بادام نمو اندام های گل از پایین به بالا[5] است، یعنی ابتدا کاسه گل[6] ، سپس جام گل[7] و بعد از آن پرچم ها و در نهایت مادگی تمایز می یابد. مراحل مختلف نمو جوانه گل در بادام از نظر آناتومیک در شکل ۲ (A الی H) نشان داده شده است(جلیلی مرندی و. حکیمی رضائی ۱۳۷۷، ایمانی ۱۳۸۲).

[1] Flower induction
[2] Flower initiation
[3] Differentioation
[4] Flower formation
[5] Acropetal
[6] Sepals
[7] Petals



شکل ۲. مراحل نمو جوانه گل در بادام رقم فرانیس(A,B,C,D .E.F.G,H): f = براکته ها؛ m = پریموردیا؛ s =مریستم رویشی؛ c = کاسبرگ؛ p= گلبرگ؛ e = پرچم؛ p = مادگی(ایمانی و مفخمی ۲۰۱۳)

۵. زمان گل دهی یا شکفتن گل: در این مرحله گل ها تکامل یافته، در اواخر زمستان یا اوایل بهار شکفته می شوند. البته در مناطق گرم زمان شکوفه دهی برای همه ارقام تقریباً یکسان بوده، اما در آب و هوای مدیترانه ای این زمان کاملاً متفاوت است. زمان گلدهی درختان بادام به نوع رقم بادام(دیرگل و یا زود گل بودن) و شرایط اقلیمی(فصل گل دهی) بستگی دارد. بنابراین زمان گلدهی، به عنوان پیامد مراحل رشد و فنولوژی جوانه گل درختان بادام، ارتباط مستقیم با نوع رقم و شرایط اقلیمی پیدا می کند. مراحل مختلف فنولوژی درختان بادام در شکل شماره ۳ نشان داده شده است.

شکل ۳. مراحل رشد و فنولوژی جوانه گل درختان بادام(ایمانی و همکاران،۱۳۹۰)

نقش زنبور عسل در گرده افشانی وافزایش کمی وکیفی محصول

امروزه نشان داده شده است اختلال در گرده افشانی، مشکل مهم اکثر باغ های درختان میوه به ویژه درختان میوه آنتموفیل (حشره گرده افشان) از جمله بادام به حساب می آید، چون اغلب ارقام بادام خودناسازگارهستند که باعث می گردد عمل گرده افشانی به نحو مطلوب صورت نگیرد و در نتیجه با کاهش عملکرد مواجه هستیم، بنابراین موضوع باروری درختان بادام بسیار مهم می باشد. هرچند درختان بادام دارای گل های هرمافرودیت است ولی به علت خودناسازگاری، در اکثر ارقام ، درموقع تلقیح بایستی به اندازه کافی گرده سازگار در اختیار کلاله قرار گیرد درغیراین صورت باعث اختلال در باروری و ریزش گل ها و میوه ها در مراحل اولیه نمو می گردد. لذا عمل گرده افشانی و تلقیح در بادام در شرایط طبیعی فقط توسط حشرات گرده افشان به ویژه زنبور عسل صورت می گیرد. بر حسب تجربیات موجود باد نقش مهمی در گرده افشانی بادام ندارد زیرا گرده ها سنگین و چسبناک بوده و آغشته به نوش هستند. اگر امکان گرده افشانی به موقع و موثر فراهم نشود، تلقیح کامل انجام نخواهد شد و تشکیل میوه با اشکال مواجه می شود و عملکرد کاهش می یابد. بنابراین گرده افشانی و باروری گل ها نیازمند به گرده افشانی توسط حشرات به ویژه زنبور عسل ضرورت تام دارد. چون گرده افشانی ناقص نه تنها سد مهمی در برابر تولید حداکثر محصول در محصولات حشره گرده افشان به شمار می رود، بلکه باعث کاهش محصول می گردد. مطالعات انجام شده نشان می دهد که تشکیل میوه در اغلب ارقام محصولات حشره گرده افشان

(حتی برای ارقام خود سازگار) به میزان دگر گرده افشانی آنها توسط حشرات گرده افشان کننده بستگی دارد. به عنوان مثال در آزمایشی در یک باغ سیب، با به کار بردن سه کلونی زنبور عسل در هر هکتار (۳۳ عدد زنبور عسل در هر ۱۰۰۰ گل) ۳۲ درصد میوه تشکیل شده و ۵۷ کیلوگرم میوه به دست آمد، در حالی که در یک باغ دیگر سیب با همان شرایط کشت فقط با به کاربردن یک کلنی زنبور عسل در هکتار (۱۵ عدد زنبور عسل در هر ۱۰۰۰ گل) ٪۱۵ میوه تشکیل شده و ۳۰ کیلوگرم میوه حاصل شد. در بادام نیز اگر هر کدام ازگل ها گرده افشانی وتلقیح نشده باشند عملاً تولید محصول(تشکیل مغز میوه) امکان پذیر نمی باشد. بنابراین رویکرد جدید بر مدیریت گرده افشانی درختان میوه برای متولیان و بهره براداران که از گذشته به بوته فراموشی سپرده شده است، باید به طور کامل مورد توجه قرار گیرد.

لزوم رعایت موارد کاربرد سموم شیمیایی، ترغیب باغداران برای کنترل تلفیقی و بیولوژیک برای حفاظت زنبور های عسل در فرایند گرده افشانی

در مدیریت گرده افشانی استفاده از آفت کش ها باید تا حد امکان حداقل باشد. در زمان گلدهی اگرمجبور به استفاده آفت کش ها در زمان گلدهی باشیم باید با مشورت کارشناسان مربوطه این کار را با انتخاب حداقل حشره کش مضر برای زنبورها و سم پاشی در اواخر بعد از ظهر و یا در شب و با سموم دوره کارانس خیلی کوتاه انجام گیرد. از همه مهمتر باغداران برای کنترل آفات و بیماری ها لازم است از روش های تلفیقی و بیولوژیک بهره جویند تا کمترین اختلال در عملیات گرده افشانی به وجود نیاید.اکر این کار فرهنک سازی بشود، به دنبال آن کسب وکار های مهم در زمینه کنترل های طبیعی در استانها ایجاد می شود. البته این کار مستلزم آموزش و اطلاع رسانی به ویژه از بعد سلامت جامعه و با آگاه سازی مضرات مصرف سموم مخصوصاً باقیمانده سموم در مصارف داخلی وخارجی است. چون امروزه گرایش های جهانی خرید محصولات ارگانیک و سالم است. بدیهی است، با یک برنامه‌ریزی صحیح توام با استفاده از تکنولوژی مناسب و استفاده از دانش باغبانی، ارقام مناسب و اصلاح شده و روش های پیشرفته باغداری می‌توان پشتوانه ارزی مناسبی برای کشور فراهم کرد. امروزه تولید، اشتغال زایی، صادرات و ارز آوری و روند گسترش باغداری دورنمای امیداوار کننده ای را نشان می‌دهد،. در چنین شرایطی سامان دهی و منسجم کردن برنامه های به باغی از جمله مدیریت گرده افشانی در راستای افزایش عملکرد و کاهش هزینه های تولید، بهبود وضعیت اقتصادی محصولات و بهبود کیفیت محصول کاملا احساس می شود.

گرده افشانی

گرده افشانی مهمترین و پیچیده ترین بخشی از فرآیند تولید میوه، به ویژه در محصولات دگر گرده افشان مثل بادام می باشد. باروری گل های بادام نیازمند گرده افشانی(انتقال گرده از بساک به روی کلاله) گل های آن با گرده دارای قوه نامیه خوب و سازگار است که این نوع گرده ها در سطح کلاله پذیرا قرار گیرند. گرده افشانی ناقص مانع مهمی در برابر تولید حداکثری محصول بادام است (کستر و گرادزیل ۱۳۹۶). لذا تعیین بهترین گرده زا برای ارقام مختلف بادام و کشت مخلوط آنها در زمان احداث باغ ، کارایی کشت بادام و عملکرد آن را را افزایش می دهد. اغلب ارقام تجارتی بادام خود ناسازگارند. ناسازگاری در بادام در ۹۹٪ از حالات، از نوع گامتوفیتی تک ژنی است. این سیستم اغلب بازدارندگی رشد لوله گرده از طریق خامه را کنترل کرده، و از رشد لوله گرده جلوگیری می کند (آلونسون و سوسیاز آی کمپانی ۲۰۰۵) .

از آنجا که قسمت قابل استفاده میوه در بادام، بذر حاصل از تلقیح کامل تخمک است، بنابراین برای داشتن عملکرد بالا، باید درصد بیشتری از گل های بادام تلقیح گردد. از طرفی کشت همزمان حداقل دو رقم سازگار با یکدیگر و گلدهی توام و حضور حشرات گرده افشان به ویژه به کار بردن زنبور عسل(به عنوان موثرترین و مهمترین حشرات گردهافشان کننده گل های بادام) برای انتقال دانه گرده می تواند تعداد گل های تلقیح شده و نهایتاً تولید را افزایش دهد(شکل ۴).

شکل ۴ – گرده افشانی در باغ های بادام در حضور زنبور عسل

بطور معمول، اگر حدود ۳۰٪ گل های بادام به میوه تبدیل شده و تا زمان برداشت روی درخت باقی بمانـد، تولیـد اقتصادی خواهد بود. این میزان بسته به زمان، شرایط تلقیح و تعداد گل های موجود روی درخت و سایر فاکتورها می تواند از ۲۰ تا ۴۰ درصد متغیر باشد. درجه حرارت مناسب برای گرده افشانی ۲۵ـ ۱۵/۵ درجـه سـانتی گـراد است. دمای کمتر از ۵/ ۱۵درجه سانتی گراد و یا بالاتر از ۲۶/۵ درجه سانتی گـراد سـبب کـاهش گـرده افشـانی خواهد شد. در ضمن درجه حرارت مناسب برای فعالیت زنبور عسل ۲۱+ درجه سانتیگراد می باشـد. شـرایط آب و هوایی نامطلوب، (بارندگی، وزش بادهای شدید با سرعت بیش از ۱۵ متر در ثانیه و ...)، با تـأثیر شـدید بـر روی فعالیت زنبورهای عسل، شسته شدن دانه گرده از سطح کلاله، ترکیدن تعدادی از دانه های گرده و نیز وارد کردن آسیب به گل ها، سبب کاهش باروری می شود. رطوبت نسبی کمتر از ۲۰ درصد توأم با دمای بـیش از ۳۵ درجـه سانتی گراد عمل لقاح را دچار اختلال می کند. بعد از مرحله شکوفایی، هر چقدر گرده افشانی زودتر صورت گیرد، احتمال لقاح و میوه بندی افزایش می یابد. لازم به ذکر است، در شرایط معمول، میانگین تشکیل میوه در بسیاری از ارقام بادام ۲۲٪ تا ۳۰٪ می باشد، اما برای افزایش تولید اقتصادی می بایست تعداد زیادی از گل هـا بـه میـوه تبدیل شوند. همانگونه که پیش از این ذکر شد، درصد تشکیل میوه تحت تاثیر شرایط حاکم بر دوره گرده افشانی تعیین شده و عواملی مانند شرایط آب و هوایی، وجود حشرات گرده افشان و از همه مهمتر سازگاری ارقام گرده زا و گرده گیرنده (رقم اصلی) بر گرده افشانی و تشکیل میوه موثر می باشد(سوسیاز آ کمپانی، ۱۹۹۰).

از آنجائیکه شرایط جوی مطلوب در زمان گلدهی برای به حداکثر رسیدن فعالیت زنبـور و توزیـع گـرده ضـروری است، بنابراین شرایط آب و هوایی نامطلوب به ویژه با تأثیر شدید بر فعالیت زنبورهای عسل، باروری کاهش مـی یابد. به همین دلیل در اغلب برنامه های اصلاحی بادام، پرورش ارقام خودسازگار برای حل مشکلات در مدیریت و گرده افشانی در باغ های بادام توصیه شده و این امر منجر به تولید و احداث باغ های تک رقمـی خواهـد گردیـد (کستر و آسی ۱۹۷۵). امروزه تعداد کمی ارقام خودبارور در دسترس هسـتند کـه ازکیفیـت بازارپسـندی بـالایی برخوردار نمی باشند. از اینرو، گرده افشانی در بادام اجباراً توسط حشرات گرده افشان (زنبور عسـل) بایـد صـورت گیرد و نقش باد در این فرآیند بسیار ناچیز است. بنابراین حضور زنبورهای عسل در دوره گل دهی بادام ضـروری خواهد بود. برای اطمینان از وجود زنبور عسل کافی در این مرحله، می بایست در زمان شروع مرحلـه گـل دهـی

بمنظور افزایش باروری و عملکرد، ۲ الی ۳ کندو در هر هکتار در باغ قـرار داده شـوند. در شـرایط نامسـاعد آب و هوایی برای پرواز زنبورها، ۳ الی ۴ کندو در هر هکتار تعداد کافی زنبور را برای تلقیح شکوفه های بادام فراهم می کند. این تعداد کندو بر اساس شرایط محلی تغییر می کند. در باغ های پیوندی برخلاف باغ های بذری که ژنوتیپ های مختلف قادر به تلقیح یکدیگر می باشند، وجود یک یا دو گرده زا[1] نیز ضروری اسـت. بـرای ایـن منظـور در اغلب سیستم های کاشت دو ردیف از رقم تجارتی با یک یا دو ردیف تلقیح کننده و یا یـک رقـم اصـلی بـا یـک ردیف رقم تلقیح کننده کشت می گردد. در اغلب موارد از دو رقم تلقیح کننده که یکی گل دهـی نسـبتاً زودتـر و دیگری کمی دیرتر از رقم تجارتی دارد، استفاده می شود. در صورت استفاده از یک رقم تلقیح کننده مـی بایسـت این رقم با رقم اصلی، شکوفه دهی همزمان یا کاملاً همپوشان داشته باشد. رقم یا ارقام تلقیح کننده همچنین می بایست قادر به تولید دانه گرده کافی بوده، گل دهی آن از سالی به سال دیگـر مـنظم باشـد و نهایتـاً محصـول مرغوب تجاری تولید نماید(ایمانی، ۱۳۷۹، جلیل دژمپور، ۱۳۷۹).

اهمیت ارقام گرده زا در تشکیل و تولید میوه بادام

در درختان بادام، عوامل زیادی بر تشکیل و تولید میوه موثر هستند، ولی یکی از از عوامل مهم بر باردهی مدیریت گرده افشانی است، بنابراین، بمنظور تضمین تشکیل و تولید میوه اولاً توجه به وضعیت نهال مورد استفاده در موقع احداث باغ و به ویژه چگونگی باروری آنها حایز اهمیت است. در صورت نیاز نهال رقم مورد نظر به گرده زا، بایـد گرده زای مناسب آن را تهیه و در زمان احداث باغ در رابطه با رقم عمده گرده گیرنده با نسبت و موقعیت مطلوب کشت نمود تا بهترین امکان گرده افشانی در زمان گلدهی رخ دهد. ثانیاً استفاده از کندوی زنبـور عسـل در موقـع گرده افشانی، عدم آبیاری و سمپاشی درختان از زمان شروع گلدهی تا قبل از ریزش گلبرگ ها، می تواند مکمـل تضمین تشکیل و تولید میوه به حساب آید.

[1] Pollinizer

از آنجا که در احداث باغ، هزینه های اولیه آماده سازی و نیز هزینه نگهداری سالیانه تا زمان باردهی درختان میوه بالا است، باید در انتخاب نوع نهال دقت کرد، زیرا اشتباه در این مرحله زیان های جبران ناپذیری برای باغدار بـه دنبال خواهد داشت. در اینجا به طور اختصار به ارقام بادام نیازمند گرده زا و آرایش درختان گرده زا در موقع احداث باغ اشاره می شود. البته ارقام بادامی که نیاز به گرده زا ندارند (مانند ارقام خود گشن از قبیل تونـو و سـوپرنووا) را می توان به صورت تک رقم در باغ کشت نمود. این ارقام خودسـازگار(خودبارور) بـوده و در صـورتی کـه تمـاس فیزیکی کلاله و بساک به علت موقعیت فضایی آنها، امکان انتقال گرده را بدهد، خود گرده افشانی به میزان زیادی تسهیل می گردد. پدیده خود گرده افشانی/ خودباروری در هلو، شلیل و آلبالو نیـز وجـود دارد(ایمـانی،۱۳۸۳) و در نتیجه از این گونه ها می توان "باغ های تک کشت" یا "باغ های کشت شده با یک رقم" احداث نمود. در مقابل اکثر ارقام بادام از نظر تجاری خود ناسازگار بوده و برای تولید اقتصادی به گرده زا نیاز دارند. در صورت کشت این ارقام به صورت تک رقمی، گرده آنها منجر به تولید میوه اقتصادی تولید نمی شود. لذا استفاده از درختان گرده زا برای این ارقام و همچنین استفاده از زنبور عسل به عنوان عامل گرده افشان ضرورت دارد. در برخی میوه ها مانند گیلاس و بادام (به استثنای ارقام خود سازگار) خودتلقیحی به ندرت روی می دهد. بنابراین در زمان احداث باغ در این گونه ها، باید دو یا چند رقم در باغ کشت شود تا در زمان تولید از نظر باروری، با مشکلی مواجه نشوند. به باغ های احداث شده از چند رقم،" کشت ترکیبی"[1] گویند. در ادامه، خصوصیات لازم برای گرده زاها، تعداد و یا نسبت مورد نیاز گرده زا با توجه به آرایش مورد نیاز آنها در باغ ارائه شـده اسـت(ایمانی، ۱۳۷۹، دژمپـور، ۱۳۷۹، ایمـانی ۱۳۸۳).

خصوصیات لازم برای ارقام گرده زا در باغ های بادام

همزمانی طول دوره گلدهی ، تولید گل فراوان، طولانی بودن دوره گلدهی و ریزش دانه گرده، زنـده بـودن دانـه گرده تولید شده توسط گرده زا از جمله ویژگی های ارقام گرده زا است. در زمان احداث باغ وکاشت نهال، موقعیت و آرایش رقم گرده دهنده نسبت به رقم اصلی در باغ از اهمیت بالایی برخوردار است. در این رابطه از آرایش های

[1] Multicultural orchards

مختلف ارقام گرده زا در رابطه با رقم اصلی استفاده می شود که نمونه هایی از آن در اشکال ۵ الـی ۸ ارائـه شـده است.

X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	O	X	X	O	X	X	O	X
X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	O	X	X	O	X	X	O	X
X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	X	X	X	X	X	X	X	X
X	O	X	X	O	X	X	O	X
X	X	X	X	X	X	X	X	X

شکل۵. روش کشت ۱ به ۹ : X = رقم اصلی ; O = گرده زا

O	X	X	O	X	X	O	X	X	O
O	X	X	O	X	X	O	X	X	O
O	X	X	O	X	X	O	X	X	O
O	X	X	O	X	X	O	X	X	O
O	X	X	O	X	X	O	X	X	O
O	X	X	O	X	X	O	X	X	O
O	X	X	O	X	X	O	X	X	O

شکل۶. روش کشت ۱ به ۳ : X = رقم اصلی ; O = گرده زا

O	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O
O	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O
O	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O
O	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O
O	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O
O	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O
O	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O

شکل ۷روش کشت ۱ به ۵: X = رقم اصلی ; O = گرده زا

O	O	X	X	X	X	O	O	X	X	X	X
O	O	X	X	X	X	O	O	X	X	X	X
O	O	X	X	X	X	O	O	X	X	X	X
O	O	X	X	X	X	O	O	X	X	X	X
O	O					O	O				
O	O	X	X	X	X	O	O	X	X	X	X
O	O	X	X	X	X	O	O	X	X	X	X

شکل۸ روش کشت ۲ به ۶: X = رقم اصلی ; O = گرده زا

میوه دهی

تشکیل میوه– گل های بادام بلافاصله بعد از باز شدن آماده گرده افشانی بوده و فقط به مدت ۳ الی ۵ روز قدرت پذیرش دانه گرده و باروری دارند. مطالعات انجام شده نشان می دهد گل هایی که یک روز بعد از باز شدن تلقیح شده اند، ۳۰٪ قابلیت تشکیل میوه ، ۳ روز بعد از باز شدن ۲۱٪ و ۵ روز بعد از باز شدن تنها یک درصد باردهی را داشته اند (جدول ۱). بنابراین مدیریت صحیح گرده افشانی (در نظر گرفتن گرده زای مناسب،آرایش گرده زا و استفاده از کندوی زنبور عسل در موقع گرده افشانی) می تواند بهمراه سایر عوامل موثر در تشکیل و

تولید میوه، میزان تولید و بهره وری اقتصادی را افزایش دهد. بررسی ها نشان داده است که متوسط عملکرد بادام در استرالیا ۵۳۰۳۵ کیلو گرم در هکتار(آمار نامه سایت سایت فائو ۲۰۱۴) و در ایران۱۵۶۹۹ کیلو گرم در هکتار(آمار نامه سایت سایت فائو ۲۰۱۴) است که عمدتاً ناشی از درصد پائین تر تشکیل میوه بادام در نتیجه شرایط تلقیح می باشد، به طوری که متوسط درصد تشکیل میوه بادام در استرالیا ۳۰-۲۷ درصد (مک گرگور،۱۹۷۷؛ هیل وهمکاران، ۱۹۸۵؛ وزوایی،۱۹۹۴؛ ساموئیل، ۲۰۰۷) و در ایران۹/۲- ۱۲درصد گزارش شده است(طلائی و ایمانی ۱۳۷۴؛ علیزاده و همکاران،۱۳۸۸؛ رسولی و ایمانی،۲۰۱۶) . از اینرو، می توان دریافت شاید که بیشترین درصد افزایش تولید به مدیریت گرده افشانی مربوط باشد(شکل ۹).

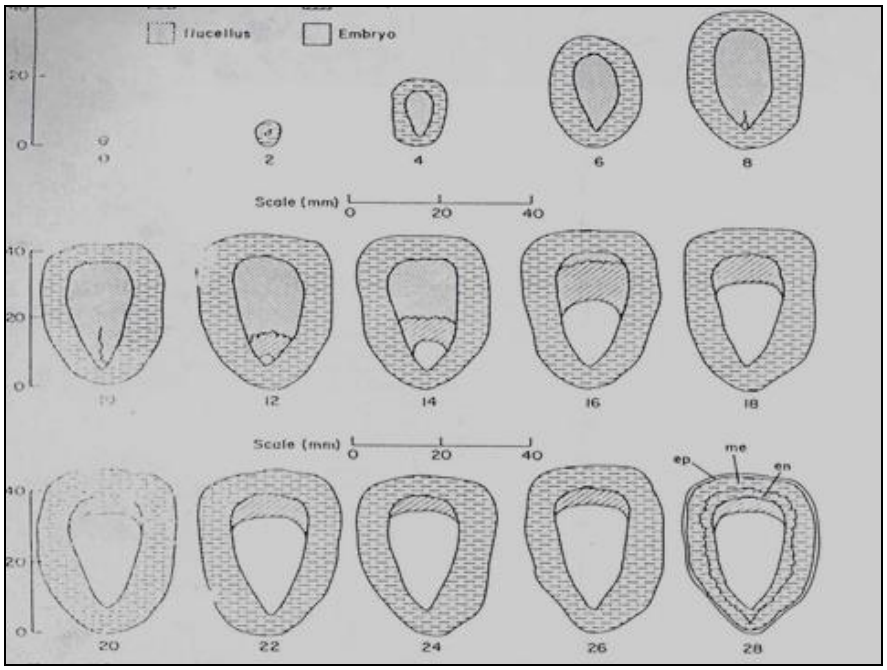
شکل۹. تاثیر گرده افشانی بر تشکیل و تولید میوه(مک گرگور،۱۹۷۷؛ هیل وهمکاران، ۱۹۸۵؛ وزوایی،۱۹۹۴؛ ساموئیل، ۲۰۰۷)

جدول ۱. درصد تشکیل میوه در بادام در اثر تلقیح در زمان های مختلف پس از بازشدن گل ها(گریکس و ایواکری، ۱۹۶۴)

تلقیح گل ها ۱ روز بعد از باز شدن	تلقیح گل ها ۳ روز بعد از باز شدن	تلقیح گل ها ۵ روز بعد از باز شدن
۳۰٪ قابلیت تشکیل میوه	۲۱٪ قابلیت تشکیل میوه	۱٪ قابلیت تشکیل میوه

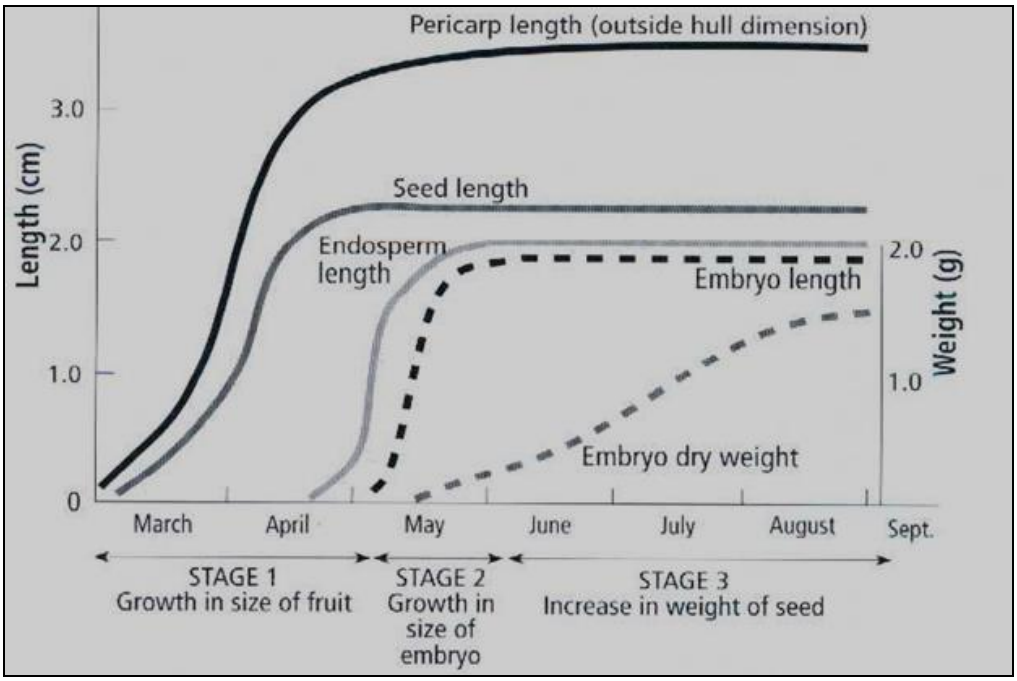
دوره رشد و رسیدن میوه

میوه بادام شفت بوده، لذا دوره رشد آن مضاعف است (شکل ۱۰ و۱۱). نمو میوه ۷۰ تا ۷۵ روز بعد از شکوفه دهی متوقف می شود و زمان بلوغ میوه به تاریخ گل دهی ارتباط ندارد. پوسته سبز[1] تقریبا در همه ارقام نازک است و ضخامت آن ۵ تا ۱۵ میلی متر می باشد. در زمان بلوغ پوسته سبز شکافته شده و درون بر نمایان می شود. میزان استحکام سطح ظاهری و شکل اندوکارپ[2] (پوست چوبی میوه) از مشخصات ارقام مختلف بادام است، اما تحت شرایط محیطی می تواند تغییر کند. درون اندوکارپ یک یا دو مغز قهوه ای که از نظر اندازه متفاوتند، وجود دارد. در بادام رشد جنین به کندی صورت می گیرد. زمانیکه میوه به اندازه کامل می رسد، رشد جنین سریع شده و تمام اندوسپرم را مصرف می نماید. در زمان بلوغ، جنین با یک لپه بزرگ همراه می شود. عملیات تنک کردن میوه در بادام مورد نیاز نیست. فرآیند رسیدن میوه در اکثر ارقام بادام به فصل رشد طولانی حداقل ۶ تا ۸ ماه نیاز دارد(رسول زادگان، ۱۳۷۰، جلیلی مرندی و همکاران، ۱۳۷۷، ایمانی ، ۱۳۸۲).



شکل ۱۰ مراحل مختلف نمو قسمت های مختلف میوه در بادام در مرحله رشد

[1] Hull
[2] Shells



شکل۱۱. مراحل مختلف نمو قسمت های مختلف میوه در بادام در مرحله رشد

همان طوری که در شکل فوق مشاهده می شود رشد میوه بادام از خارج به داخل می باشد ابتدا قسمت پریکارپ (اپیدرم و میانبر که در مجموع قسمت سبز میوه(Hull) را تشکیل می دهد) رشد می کند در مرحله بعد قسمت آندوکارپ(درون بر) یا پوست چوبی(Shell) رشد می کند و در نهایت مغز یا بذر(Seed or Kernel) که متشکل از لپه ها، پوست مغز و جنیین می باشد، رشد می کند(ایمانی، ۱۳۷۹؛کستر وآسی، ۱۹۷۵).

ریزش گل و میوه

هرچند گل های درخت بادام به شرایط محیطی نامساعد بسیار حساس می باشد و ریزش گل و عدم تشکیل میوه می تواند به دلیل مشکلات در گرده افشانی نیز بوجود می آید. گاهی ریزش گل ها به دلیل نقص ساختار گل، عدم تلقیح و از بین رفتن تخمدان صورت می گیرد. بعد از باز شدن گل ها، ریزش ریزش گل و میوه ممکن است در سه مرحله اتفاق افتد: اولین ریزش میوه حدود ۱۰ روز بعد از گرده افشانی اتفاق افتاد و مربوط به گل های گرده افشانی نشده می باشد. علت آن به نقص مادگی و عقیمی گل ها نسبت داده می شود. این مورد بر حسب ارقام مختلف متفاوت است. ریزش دوم میوه حدود ۲۰ روز بعد از گرده افشانی و مربوط به میوه چه های تلقیح نشده ای بوده که در اثر ناسازگاری گرده افشانی ریزش می نمایند. سومین ریزش میوه حدود ۴۵ روز بعد از گرده افشانی مشاهده می شود و مربوط به سقط جنین می باشد که بر اثر رقابت تغذیه ای و یا ژنیتیکی می باشد که این حالت

نیز بسته به نوع رقم متفاوت می باشد. اگرچه ریزش گل و میوه همیشه اتفاق می افتـد، امـا بهبـود مـدیریت بـاغ میزان ریزش اولیه و ریزش در مراحل مختلف را می توان کاهش می دهد(ایمانی، ۱۳۷۹، فلاح و همکاران ۲۰۱۴).

شاخص رسیدن میوه

اولین نشانه رسیدن بادام، ایجاد شکاف در پوسته سبز میوه است. به عبارتی، وقتی پوست سبز میوه شکاف بر مـی دارد، زمان بلوغ یا رسیدن میوه فرا رسیده و ارتباط میوه ها در محل اتصال به شاخه ضعیف شده، بـه طـوری کـه نیروی کمی برای برداشت آن از درخت کافی است. مرحله برداشت معمولاً زمانی صورت مـی گیـرد کـه در ۹۰٪ میوه ها شکاف در پوسته سبز ایجاد شده باشد. میوه هایی که در قسمت های خارجی تاج درخت رشد و نمو یافتـه اند، نسبت به داخل تاج زودتر به مرحله بلوغ می رسند. تحت شرایط تنش آب و مواد غذایی، پوسته سبز بـه درون بر می چسبد و به آسانی جدا نمی شود. تاخیر در برداشت، احتمال آلودگی به"کرم ناول اورنج"[1] را افـزایش مـی دهد.

سال آوری در بادام

تاثیر تشکیل میوه زیاد در بادام بر کیفیت میوه ناچیز است، اما تشکیل میوه زیاد می تواند بر گل انگیزی سال بعد اثرگذار باشد. از اینرو، هرچند در ارقام بادام سال آوری وجود ندارد، ولی در برخی از ارقام به ویژه تیپ های اسپور، وقوع این فرآیند گاهی مشاهده می شود که می تواند ناشی از کاهش گل انگیزی حاصل از رقابت بـر سـر مـواد غذایی به ویژه کربوهیدرات ها و تنش آب در زمان گل انگیزی باشد. لذا با مدیریت تغذیه وآبیاری در این ارقام می توان به تولید گل و میوه کافی و جلوگیری از سال آوری دست یافت.

[1] Navel orange worm

فصل سوم- خودسازگاری/خودناسازگاری: روش های بررسی آن

همانگونه که پیش از این نیز ذکر شد، خودناسازگاری بادام از نوع گامتوفیتیک است. خودناسازگاری گامتوفیتیک، یکی از گسترده‌ترین سیستم‌های خودناسازگاری در نهاندانگان (نتانکور ۱۹۹۷) و نیز یکی از فراوانترین مکانیسم-های خودناسازگاری در گونه های گیاهان باغی است (سجلی ۱۹۹۴). در سیستم خودناسازگاری گامتوفیتیک، کلاله مرطوب بوده و ممانعت از رشد دانه گرده و باروری در داخل خامه صورت می‌گیرد. در این سیستم، فنوتیپ دانه گرده توسط ژنوم هاپلوئید گرده تعیین می‌شود و ظهور آلل های S بدون غالبیت(چیرگی) و اصطلاحاً هم بارز در مادگی صورت می‌گیرد. در واقع عکس العمل ناسازگاری بین بخش انتین دانه گرده (با بافت هاپلوئید) و مادگی(با بافت دیپلوئید) رخ می دهد. اگر چه دستیابی به خودسازگاری در ارقام تجارتی بادام یکی از اهداف مهم در برنامه‌های اصلاحی بادام می‌باشد، ولی شناسایی ژنوتیپ خودناسازگاری در ارقام تجاری بادام، بخش مهمی از برنامه های اصلاحی بادام بوده که از طریق بیولوژی (مطالعات گرده افشانی کنترل شده و رشد لوله گرده) و مولکولی (مطالعات ایزوآنزیمی، واکنش های زنجیره ای پلیمراز و توالی‌یابی) امکان پذیر است. به طور کلی برای تعیین ژنوتیپ خودناسازگاری پنج روش استفاده می‌شود (لوپز و همکاران ۲۰۰۶، هالاز و هیگدوس ۲۰۰۶، زین العابدینی و ایمانی ۱۳۹۵) که به دو گروه اصلی تقسیم بندی می شوند.

روش های متداول(کلاسیک)

روش های کلاسیک یا بیو لوژیک تعیین خود ناسازگاری به دو صورت انجام می گیرد:

گرده افشانی کنترل شده وتعیین درصد تشکیل میوه

یکی از روش های اولیه برای تعیین خود ناسازگاری، پوشاندن شاخه‌های حاوی گل در مرحله قبل از گرده‌افشانی با کیسه ململ است (شکل ۱۲). در این روش شاخه هایی که متوسط ۲۰۰-۱۰۰ عدد گل داشته باشند را با کیسه ململ پوشانده و گاهی اوقات نیز به منظور انجام گرده‌افشانی اقدام به تکان دادن شاخه های پوشانده شده می

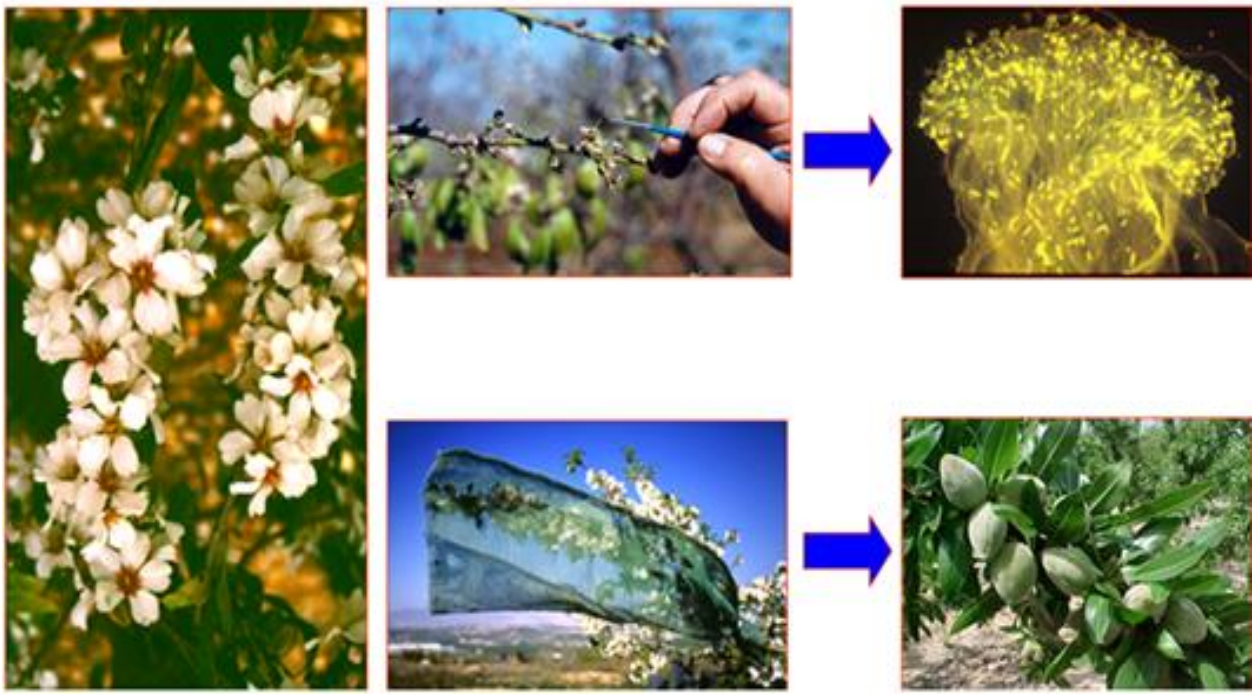
نمایند. بعد از دو هفته پس از پایان گلدهی کیسه ها را باز کرده و در فواصل ۳۰ و ۶۰ روز بعد از گرده افشانی اقدام به شمارش میوه ها نموده و درصد تشکیل میوه مشخص می‌شود(شکل ۱۲). در این روش درصد تشکیل میوه بیانگر وضعیت خودسازگاری یا خود ناسازگاری می‌باشد. اگر تشکیل میوه، صفر تا یک درصد باشد، خود-ناسازگاری، بین ۲ تا ۵ درصد، نیمه خودناسازگاری بین ۶ تا ۱۰ درصد، خود سازگاری، بالای ۱۰ درصد به عنوان کاملا خود سازگار تلقی می شود (اورتگا و دیسنتا ۲۰۰۳). برای تعیین ژنوتیپ خود ناسازگاری، بایستی تلاقی‌های کنترل شده و آزمون تلاقی[1] با استفاده از ارقام با آلل های خود ناسازگاری شناخته شده، انجام ارزیابی تشکیل میوه و تعیین درصد تشکیل میوه انجام گیرد. از این روش برای مشخص کردن ژنوتیپ خود ناسازگاری و تعیین گروه های خود ناسازگار در ارقام بادام استفاده شده است (احمدی و همکاران ۲۰۱۳، کستر و همکاران ۱۹۹۶). اگر چه این روش ساده و کم هزینه است، ولی نتایج آن به دلیل آنکه در شرایط باغ انجام می‌گیرد، تحت تاثیر شرایط اقلیمی قرار می گیرد و شاید عدم تشکیل میوه مربوط به نامساعد بودن شرایط اقلیمی و سرمازدگی بهاره باشد و ارتباطی با مسئله خودناسازگاری نداشته باشد، بنابرین روش قابل اطمینانی نبوده و نتایج بایستی با سایر روشها تایید شود (نجفی و همکاران ۲۰۱۵).

انجام تلاقی کنترل شده و تعقیب میکروسکوپی لوله گرده

انجام تلاقی های کنترل شده و مطالعه رشد لوله گرده با میکروسکوپ فلورسنس به دو صورت انجام می گیرد:

الف- گرده افشانی در شرایط باغ: در این روش خود گرده افشانی کنترل شده در گل‌های اخته شده در باغ انجام می‌گیرد و سپس نمونه‌های مادگی که خود گرده‌افشانی شده‌اند را در طی زمان‌های مختلف برداشت و طی مراحل مختلف آماده مشاهده با میکروسکوپ فلورسنس می‌گردند و به این طریق رشد لوله گرده و میزان نفوذ آن به درون خامه و تخمدان مشخص می شود(شکل ۱۲).

[1] Test crosses



شکل ۱۲ مراحل مختلف تعیین ژنوتیپ های خود سازگار بادام با استفاده از روش کلاسیک(درصد تشکیل میوه در باغ) و روش مطالعه با میکروسکوپ(رشد لوله گرده در خامه)

ب- گرده افشانی در شرایط آزمایشگاه: از این روش به منظور حذف اثرات نامطلوب شرایط محیطی باغ در تلاقی‌های کنترل شده، استفاده می شود و مطالعه رشد لوله گرده با کمک میکروسکوپ فلورسنت انجام می‌گیرد. در این روش گل‌ها را در مرحله بالن جمع آوری و گل‌ها را اخته کرده و در آزمایشگاه از ناحیه دمگل در داخل سینی‌های حاوی تورهای مخصوص در داخل آب قرار می‌دهند و خود گرده‌افشانی کنترل شده (قبلا گرده از این ارقام تهیه شده است) انجام می‌گیرد. ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از گرده افشانی و رشد لوله گرده، تعدادی مادگی در هر تیمار گرده افشانی شده در محلول FAA (اسید استیک، اتانول و فرمآلئید)فیکس شده و پس از آماده سازی نمونه‌ها، به کمک میکروسکوپ فلورسنت بررسی می‌شوند. در مادگی‌های مورد بررسی، درصد لوله گرده رسیده به انتهای خامه به عنوان شاخصی برای خود سازگاری یا خود ناسازگاری رقم است. در صورتی که کمتر از ۲۵ درصد لوله های گرده به پایین خامه رسیده باشند، رقم خودناسازگار است و در صورتی که بین ۲۵ تا ۵۰ درصد لوله های گرده به پایین خامه رسیده باشند، رقم نیمه خود سازگار (یا مشکوک به خودسازگار) و اگر بین ۵۰ تا ۷۵ درصد لوله‌های گرده به پایین خامه رسیده باشند رقم خودسازگار و در صورتی که بیش از ۷۵ درصد لوله های گرده به

انتهای خامه رسیده باشند، آن رقم کاملا خودسازگار است (آلونسو و سوسیاس آی کمپانی ۲۰۰۵b). این روش همراه با روشهای مولکولی برای تعیین ژنوتیپ خودناسازگاری در ارقام بادام بسیار سودمند است (لوپز و همکاران ۲۰۰۴، هالاز و هگدوس ۲۰۰۶، زین العابدینی و همکاران ۲۰۰۸). از این روش برای تعیین ژنوتیپ خود ناسازگاری و همچنین تعیین خودسازگاری در ارقام بادام استفاده شده است (اورتگا و همکاران ۲۰۰۳ و ۲۰۰۴، لوپز و همکاران ۲۰۰۴، زین العابدینی و همکاران ۲۰۰۹ a,b).

روش های مولکولی تعیین خودناسازگاری

ایزوآنزیم ریبونوکلئازهای خامه گل به عنوان یک جنبه پروتئومیکس در مطالعه خود(نا)سازگاری گل ها می‌باشد زیرا در ارتباط با آنزیم های ریبونوکلئاز که مستقیما در بروز و بیان خود ناسازگاری موثرند، می‌باشد. شناسایی و تجزیه و تحلیل پروتئین‌های خود ناسازگاری (*S-RNase* protein) توسط جداسازی الکتروفورز پروتئین های خودناسازگاری روی ژل پلی اکریل آمید با یکی از روشهای زیر انجام می گیرد (بوسکوویچ و همکاران ۱۹۹۶، ۱۹۹۷ و ۱۹۹۹).

الف) روش IEF[1]

ب) روش NEPHGE [2]

تفاوت این دو روش در زمان مهاجرت و حرکت پروتئین ها در میدان الکتریکی است که در روش IEF این مدت زمان طولانی‌تر لازم دارد. بوسیله روش IEF، جداسازی پروتئین‌ها وقتی که آنها به نقطه ایزوالکتریک خودشان می‌رسند تمام شده است در صورتی که در روش NEPHGE حرکت پروتئین قبل از رسیدن به نقطه ایزوالکتریک متوقف می‌شود، بنابر این جداسازی پروتئین ها قبل از رسیدن به نقطه ایزوالکتریک انجام شده و نتایج بهتر و دقیق‌تر می‌باشد. تعیین خودناسازگاری یا خودسازگاری ارقام بر اساس الگوی باندی آنها پس از رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید می‌باشد که مقایسه آنها با ژنوتیپ های شناخته شده امکان پذیر است(شکل ۱۳). وقتی که دو باند تشکیل شود یعنی هر دو آلل ناسازگاری (S_xS_y) را دارد پس خود ناسازگار است ولی اگر یک باند تشکیل شود بیانگر S_fS_x می باشد که یا خود سازگاری وجود دارد یا این که دو پروتئین متفاوت با نقطه ایزوالکتریک یکسان

[1] Iso Electro Focusing
[2] Non Equilibrium ph Gradient Electrophoresis

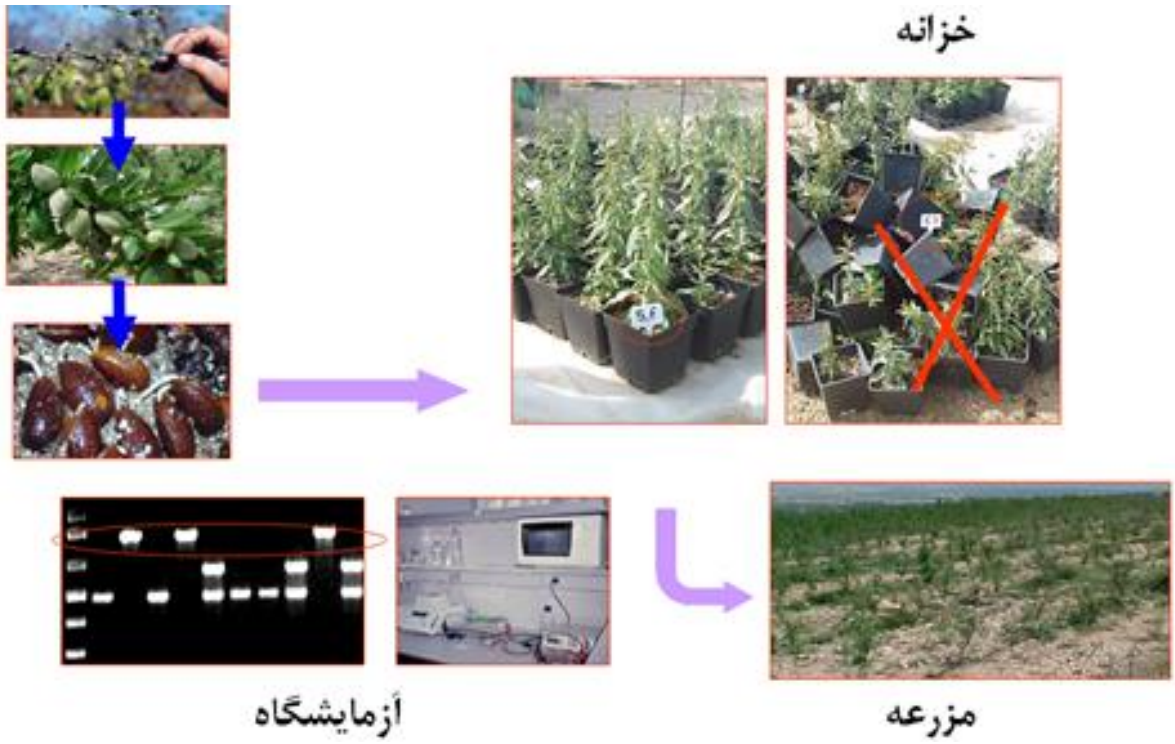
وجود دارد. در روش IEF وقتی یک باند مشاهده شود بیانگر این است که یا فقط یک S آلل دارد و یا اینکه دو – Sآلل دارای نقطه ایزوالکتریک یکسان می‌باشد. در صورتی که در روش NEPHGE اگر یک باند تشکیل شود بیانگر این است که این رقم دارای آلل Sf فاقد فعالیت ریبونوکلئازی است و بنابر این الگوی باندی را نشان نمی دهد واین ارقام خود سازگارند. شناسایی ریبونوکلئازها در بادام با استفاده از IEF و یا روش 2D-[1]PAGE تنوع بیشتری را در بین ژنوتیپ ها نشان می‌دهد (بوسگویچ و همکاران ۱۹۹۷، تائو و همکاران ۱۹۹۷). در خود-ناسازگاری بادام، گلیکوپروتئین‌های خامه با فعالیت ریبونوکلئازی کنترل می‌شوند. در این روش گلیکوپروتئین‌های خامه با ژل دو بعدی پلی اکریل آمید و الکتروفورز عمودی با روش های IEF و NEPHGH بر اساس وزن و نقطه ایزوالکتریک در روی ژل تفکیک و جداسازی می‌شوند و پس از رنگ آمیزی، نوع آلل خود ناسازگاری تعیین می‌شود. در این روش ارقام خود ناسازگار دارای دو باند، ارقام خود سازگار هتروزیگوس، دارای یک باند و در ارقام خود سازگار هیچ گونه نواری مشاهده نمی‌شود (دیسنتا و همکاران ۲۰۰۲، هالاز و هگدوس ۲۰۰۶). این روش برای تعیین آلل‌های خود ناسازگاری و خودسازگاری در بادام و سایر درختان میوه خانواده روزاسه استفاده شده است (بوسکویچ و توبوت ۱۹۹۶ و ۱۹۹۷ و ۱۹۹۹، هالاز و همکاران ۲۰۰۸، زین العابدینی و همکاران ۲۰۱۲).

تعیین آلل های خود ناسازگاری به روش PCR

شناسایی ژنوتیپ های خود ناسازگار به وسیله PCR بر اساس تکثیر DNA هدف توسط آغازگرهای عمومی و اختصاصی که بر اساس توالی DNA کدکننده آلل های S طراحی شده اند با استفاده از ژل آگارز در الکتروفورز افقی و سپس رنگ آمیزی در اتیدیوم بروماید صورت می‌گیرد. آغازگرهای عمومی طراحی شده بر اساس نواحی حفاظت شده توالی آلل های S در بادام (تامورا و همکاران ۲۰۰۰) و یا توالی آلل های S در جنس پرونوس (ساترلند و همکاران ۲۰۰۴، سانولد و همکاران ۲۰۰۳) برای تعیین آلل‌های خودناسازگاری (S_f) در بادام استفاده شده است (مارتینز گومز و همکاران ۲۰۰۳، سانچز پرز و همکاران ۲۰۰۴، اورتگا و همکاران ۲۰۰۵). آغازگرهای اختصاصی بر اساس توالی آلل های S (ما و الیویرا ۲۰۰۱) برای تعیین آلل های خود ناسازگاری استفاده شده است.

[1] Bi-dimensional Polyacrilamid Gel Electrophoresis

شناسایی آلل خود ناسازگاری S_f در نتاج حاصل از تلاقی‌های کنترل شده توسط آغازگرهای اختصاصی طراحی شده براساس توالی آلل خودسازگاری (S_f) توسط آغازگرهای CEBASf (سانچز- پرز و همکاران ۲۰۰۴a)، S_fF/S_fR (ایمانی و همکاران ۲۰۱۴) امکان پذیر است. شناسایی آلل S_f با استفاده از جفت آغازگر S_fR/S_fR توسط آلونسو و سوسیاس آی کمپانی (۲۰۰۶) در نتاج حاصل از تلاقی رقم خودسازگار تونو (S_1S_f) و رقم خودناسازگار فرانیس (S_1S_3) گزارش شده است. از آنجایی که آلل های S_3 و S_f نوارهای هم اندازه دارند، لذا برای برای تشخیص آلل S_f در جمعیت های حاصل از تلاقی‌های کنترل شده بین ارقام خودسازگار با رقم فرانیس (S_1S_3) و فرالیس (S_1S_f) از آغازگر اختصاصی CEBASf (سانچز- پرز و همکاران ۲۰۰۴) و جفت آغازگر SfF/SfR (آلونسو و سوسیاس آی کمپانی ۲۰۰۵a) استفاده می شود. همچنین تشخیص آلل S_3 با استفاده از آغازگرهای اختصاصی S_3F/S_3R_1،S_3F/S_3R_2 گزارش شده است (آلونسو و سوسیاس آی کمپانی ۲۰۰۵b). درشکل ۱۳مراحل غربال گری زود هنگام ژنوتیپ های خود سازگار بادام با استفاده از روش مولکولی نشان داده شده است.



شکل ۱۳مراحل غربال گری زود هنگام ژنوتیپ های خود سازگار بادام با استفاده از روش مولکولی

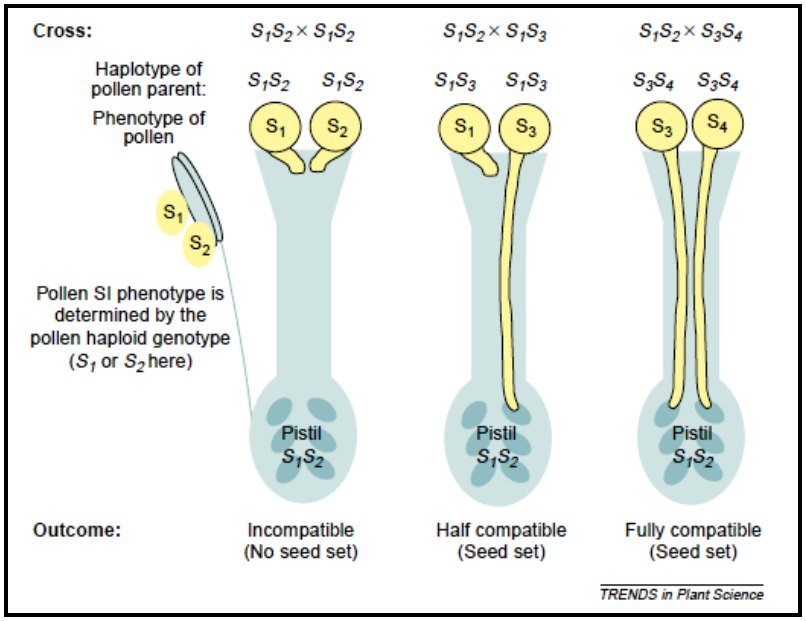
همانطوری که در شکل ۱۲ مشخص است پس از گرده افشانی و تشکیل میوه های دورگ، آنها جمع آوری شده و پس از آماده سازی بذور دورگ،آنها کشت می شوند، دانهال های حاصل در مرحله اول در خزانه بر اساس رشد ظاهری و تعیین آلل ها غربال گری اولیه می شوند.

اهمیت شناسایی آلل های خودسازگاری و خودناسازگاری

شناسایی و تعیین آلل های خودسازگاری و خودناسازگاری در بادام به ویژه در ژنوتیپ های جدید برای استفاده در کشت های ترکیبی(کشت مخلوط چند رقمی که همپوشانی گل دهی و سازگاری گرده دارند) یاکشت انفرادی یک رقم خود سازگار(Monculture) جهت افزایش عملکرد ضروری است. به عنوان نمونه وقتی آلل S در دانه گرده با آلل S در مادگی مشابه باشد، از رشد دانه گرده و لقاح جلوگیری می شود. به طوری که دانه گرده با آلل-های S_1 و S_2 با مادگی دارای ژنوتیپ S_1S_2 ناسازگار[1] بوده و رشد لوله گرده در خامه متوقف می‌شود، ولی در صورتی که دانه گرده دارای آلل‌های S_1 وS_3 باشد، دانه گرده با آلل S_3 قادر به رشد و انجام لقاح بوده که در این صورت ترکیب نیمه سازگار[2] نامیده می‌شود. در صورتی که آلل موجود در دانه گرده S_3 و S_4 باشد، در این حالت رشد لوله گرده و انجام لقاح کامل انجام می‌گیرد و این ترکیب کاملا سازگار[3] می باشد (شکل۱۴). بنابرین به منظور تولید محصول اقتصادی در باغ های تجاری بادام، شناسایی آلل‌های خودناسازگاری و تعیین ژنوتیپ ارقام و ژنوتیپ های امیدبخش بادام برای الل های S جهت تعیین ارقام گرده‌زای مناسب و سازگار با ارقام مهم تجاری، دستیابی به گرده افشانی موفق و همچنین انتخاب والدین مناسب در جهت تولید ارقام جدید در برنامه های بهنژادی، اهمیت زیادی دارد. فقدان این اطلاعات و در نتیجه انتخاب ترکیب نامناسب ارقام در هنگام احداث باغ های بادام و عدم توجه به روابط ناسازگاری بین آنها، می‌تواند بشدت به کاهش عملکرد و تولید اقتصادی این صنعت منجر گردد. از اینرو، آگاهی از وضعیت ناسازگاری ارقام و ژنوتیپ‌های ایرانی و در نهایت مشخص نمودن

[1] Incompatible
[2] Semi-compatible
[3] Full- compatible

ارقام خود سازگار با استفاده از تکنیک های جدید به عنوان یکی از مهمترین کاربرد های این روش هـا در زمینـه انتخاب ترکیبات گرده افشانی مناسب بادام برای افزایش تولید مورد توجه است.



شکل۱۴. سیستم خودناسازگاری گامتوفیتیک (فرانکلین–تانگ ۲۰۰۸).

همان طوری که در شکل ۱۴ مشخص است وقتی که ارقام بادام در ترکیب گرده افشانی دارای الل های مشابه باشند، تشکیل میوه امکان پذیر نمی باشد و در این حالت هر دو رقم نسبت به هم از نظر سازگاری گرده افشانی، ناسازگار می باشند، به عبارت دیگر دو رقم گرده گیرنده و گرده دهنده نسبت بهم دگر ناسازگار(Cross-incompatible) هستند. اما در ترکیب گرده افشانی، اگر آلل های ارقام گرده دهنده و گرده گیرنده کاملاً متفاوت باشند، نشان دهنده سازگاری گرده افشانی کامل می باشند(Full compatible)، ولی اگر یکی از آلل ها متفاوت باشند، آن موقع ترکیب گرده افشانی دارای نیمه ساز گار می باشد(Half compatible). بنابراین در مدیریت گرده افشانی اطلاع از وضعیت آلل های ارقام مورد کشت کاملاً ضروری است تا پس از احداث باغ مشکلی از این نظر پیش نیاید.

شناسایی ژنوتیپ خودناسازگاری به روش توالی‌یابی

در روش PCR، ابتدا قطعات حاصل از تکثیر DNA هدف با استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی تعیین و سپس با اندازه نوارهای حاصل از آلل های شناخته شده مقایسه و ژنوتیپ خود ناسازگاری تعیین می‌شود، ولی در

مواردی که اندازه قطعات حاصل از تکثیر، متفاوت با اندازه نوارهای حاصل از تکثیر آلل های شناخته شده باشد، برای شناسایی آلل های جدید خودناسازگاری، از کلونینگ و توالی یابی برای تعیین دقیق اندازه آلل جدید استفاده می‌گردد. از این روش با استفاده از DNA ژنومی و DNA نسخه برداری شده، توالی یابی قطعات حاصل از تکثیر در روش PCR، برای تعیین ژنوتیپ خودناسازگاری در بادام و سایر درختان میوه در خانواده روزاسه استفاده شده است (اورتگا و همکاران ۲۰۰۶، برکلی و همکاران ۲۰۰۶، ژانگ و همکاران ۲۰۰۸، کداد و همکاران ۲۰۰۸). علاوه بر شناسایی آلل‌های جدید با روش توالی‌یابی برای تعیین دقیق اندازه و توالی آلل های شناخته شده نیز از این روش استفاده می شود. روشهای بیولوژیک و مولکولی مکمل یکدیگر هستند. روشهای بیولوژی (سنتی) اطلاعات فنوتیپی را فراهم می‌کنند در حالی که روشهای مولکولی اطلاعات ژنتیکی را در رابطه با وضعیت خودناسازگاری ارائه می دهند.

آغازگرهای مورد استفاده درشناسایی آلل های S در بادام

اخیراً توالی DNA تعدادی از آلل های S قابل دسترس بوده و روش های مولکولی مبتنی بر PCR برای شناسایی آلل های S توسعه پیدا کرده است.

آغازگرهای اختصاصی

این نوع آغازگرها بر اساس توالی نواحی اینترون در ساختمان آلل خودناسازگاری خاصی (به طور مثال آلل S_1) طراحی شده و فقط قادر به تکثیر همین آلل های مخصوص (S_1) در واکنش PCR می باشند. آغازگرهای اختصاصی برای شناسایی برخی از آلل های خود ناسازگاری در بادام (گودرزی و همکاران ۲۰۱۳) و آلل خودسازگاری S_f (ایمانی و همکاران۱۳۹۳، نجفی و همکاران ۲۰۱۵، سانچز- سانچز پرز و همکاران ۲۰۰۴b) طراحی و استفاده شده‌اند(جدول۳.).

آغازگرهای عمومی

آغازگرهای عمومی بر اساس توالی نواحی حفاظت شده و مشترک بین چند آلل ناسازگاری شناخته شده در ارقام یک گونه گیاهی (مثلاً بادام) طراحی شده‌اند. آغازگرهای عمومی برای شناسایی آلل‌های خود ناسازگاری در بادام بر اساس نواحی حفاظت شده در ساختمان ژن خودناسازگاری توسط تامورا و همکاران(جدول۳.) (۲۰۰۰)، و ما و

الیویرا (۲۰۰۱) گزارش شده است و هر کدام از این آغازگرها قادر به تکثیر تعدادی از آلل های خود ناسازگاری در ارقام بادام می باشد. از آغازگرهای اختصاصی و عمومی برای تکثیر آلل های خود ناسازگاری در ارقام بادام استفاده شده است(جدول۳.) (احمدی و همکاران ۲۰۱۳، مارتینز- گومز و همکاران ۲۰۰۳، سانچز- پرز ۲۰۰۴a، لوپز و همکاران ۲۰۰۴، برکلی و همکاران ۲۰۰۶، کداد و همکاران ۲۰۰۸، زین العابدینی و همکاران ۲۰۱۲).

آغازگرهای دژنره

آغازگرهای دژنره برای تکثیر ژن های همولوگ (مشابه) بسیار سودمند هستند و این آغازگرها بر اساس توالی اسیدهای آمینه در نواحی حفاظت شده که مربوط به توالی نوکلئوتیدی است، طراحی شده‌اند. یک توالی نوکلئوتیدی وقتی دژنره نامیده می شود که یکی یا بیشتر از مکان های نوکلئوتیدی قابلیت جایگزینی با نوکلئوتید دیگر را داشته باشد. آغازگرهای دژنره برای تکثیر DNA ژنومی و یا نسخه برداری شده (cDNA) مربوط به توالی‌های مرتبط در ژن های مشابه یا ژن های از یک خانواده پروتئین خاص و آنالیز تنوع گونه‌ها بسیار سودمند هستند. آغازگرهای دژنره بر اساس همپوشانی چندگانه توالی‌های هدف طراحی می‌شوند و برنامه‌های بیو-انفورماتیک مختلفی برای طراحی این آغازگرها از همپوشانی توالی‌های اسیدهای آمینه یا توالی‌های نوکلئوتیدی وجود دارد. در واقع توالی این آغازگرها از همپوشانی و مقایسه چندین توالی ژن های همولوگ یا توالی اسیدهای آمینه مرتبط با آن ژن‌ها تهیه می‌شوند. ژن های همولوگ (مشابه)، نواحی با توالی حفاظت شده بالا و مناطقی با توالی متغیر دارند، بنابرین آغازگرهای دژنره برای شناسایی ژن های رمز کننده پروتئین های متعلق به یک خانواده شناخته شده، به کار می‌روند. اولین قدم برای شناسایی آغازگرهای مرتبط با ژن های همولوگ، بررسی همپوشانی توالی نوکلئوتیدی ژن‌ها یا توالی پروتئین‌های حاصل از آنها و یا توالی هر دو می‌باشد. دومین قدم، شناسایی حداقل دو ناحیه حفاظت شده در توالی‌های منطبق که توالی هدف، بین آن دو منطقه قرار داشته باشد و مرحله نهایی تعیین توالی جفت آغازگری که بهترین نتیجه را از از بین کلیه توالی‌های احتمالی داشته باشد. آغازگرهای دژنره به دلیل تنوع در توالی قادر به اتصال و تکثیر توالی‌های مرتبط بیشتری می‌باشند و این تنوع در توالی آغازگر، حالت اختصاصی آغازگر را کاهش داده و در واقع یک نوع آغازگر عمومی مرکب تلقی می شوند، ولی قابلیت بیشتری در تکثیر توالی هدف در ژن‌های همولوگ دارند (وی و همکاران ۲۰۰۳).

توالی آغازگرهای دژنره

در توالی این آغازگرها از کدهایی استفاده می شود که هر کدام بیانگر تنوع باز های آلی در توالی نوکلئوتیدی آغازگر می‌باشند (جدول ۲). به عنوان مثال توالی AYGCNY بر اساس کدهای ارائه شده توسط IUPAC عبارت است از A(C/T)GC(A/C/G/T)(C/T) و این توالی آغازگر ترکیبی از ۱۶ توالی آغازگر ساده می‌باشد (۱۶ = ۲×۴×۲)، زیرا Y معادل C یا T بوده و N معادل A، C، G یا T می‌باشد، یعنی به جای Y در توالی آغازگر می تواند T یا C بوده و N معادل A، C، G یا T می باشد، یعنی به جای Y در توالی آغازگر می‌تواند T یا C قرار گیرد و در طراحی توالی این آغازگرها هر دو حالت وجود دارد (وی و همکاران ۲۰۰۳). آغازگر های دژنره در واقع مخلوطی از آغازگرهایی با توالی های مشابه[1] و غیر یکسان[2] هستند که قادر به تکثیر توالی هدف در ژن های همولوگ می‌باشند. غلظت این آغازگرها باید در واکنش PCR ازآغازگرهای معمولی بیشتر باشد تا اتصال آنها به توالی DNA هدف به خوبی انجام شود. کد ژنتیکی برای اسید های آمینه مختلف دارای تنوع است، مثلاً اسید آمینه پرولین CCN (N=ATCG) در نظر گرفته می شود و این تنوع اساس طراحی آغازگرهای دژنره می‌باشد (وی و همکاران ۲۰۰۳).

جدول ۲. کد های ارائه شده توسط IUPAC برای توالی آغازگرهای دژنره

کد	معادل	موقعیت در توالی
R	R=AG	**A or G**
Y	Y=CT	**C or T**
M	M=AC	**A or C**
K	K=GT	**G or T**
S	S=CG	**C or G**
W	W=AT	**A or T**
H	H=ACT	**A, C, or T**
B	B=CGT	**C, G or T**
V	V=ACG	**A, C, or G**
D	D=AGT	**A, G or T**
N	N=ACGT	**A, C, T or G**

(منبع: وی و همکاران ۲۰۰۳)

[1] Similar
[2] Not-identical

آغازگرهای دژنره طراحی شده برای تکثیر آلل های خود ناسازگاری

این نوع آغاز گرها ترکیبی از چند نوع آغازگر عمومی هستند که بر اساس توالی حفاظت شده ساختمان آلل‌هایی در گونه های مختلف جنس پرونوس طراحی شده اند (ساترلند و همکاران ۲۰۰۸، سانولد و همکاران ۲۰۰۲، اورتگا و همکاران ۲۰۰۳) و قابلیت بالایی در شناسایی آلل های خودناسازگاری در گو نه‌های بادام، زرد آلو و گیلاس نشان داده‌اند (ساترلند و همکاران ۲۰۰۴، اورتگا و همکاران ۲۰۰۵، ژانگ و همکاران ۲۰۰۸).

آغاز گرهای دژنره، بر اساس توالی ۲۷ آلل خود ناسازگاری در پنج گونه از جنس پرونوس شامل توالی آلل های S_1 تا S_6 در گیلاس (*P. avium*)، توالی آلل های S_1 و S_2 در آلوی ژاپنی (*P. dulcis*)، توالی آلل های S_1 تا S_6 در زرد آلوی ژاپنی (*P. mume*) و توالی آلل های S_1، S_2، S_7 تا S_{10} و S_{23} و S_k در بادام (*P.dulcis*)، توالی آلل های S_1 تا S_6 در زرد آلوی ژاپنی(*P. salicina*) و پنج توالی جدید حاصل از آلوی میروبالان (*P. cerasifera*) طراحی و ساخته شده‌اند. این آغازگرها بر اساس مناطق حفاظت شده C_1 تا C_5 ساختمان ژن خود ناسازگاری طراحی شده‌اند.

آغازگرهای رو به جلو EM PC2consFD و رو به عقب EM-PC3consRD بر اساس توالی حفاظت شده و ثابت مناطق C2 و C_3 آلل های S در جنس پرونوس توسط ساترلند و همکاران (۲۰۰۴) طراحی شده اند و قادر به تکثیر اینترون دوم در آلل‌های خودناسازگار بادام می باشند. برای تکثیر اینترون اول در آلل‌های خودناسازگار بادام از ترکیب آغاز گر رو به جلو PaconsI-F (سانولد و همکاران ۲۰۰۲) که بر اساس توالی ناحیه ابتدایی ژن خود ناسازگاری (SP) در ۱۳ آلل خود ناسازگاری در گیلاس طراحی شده است با آغازگر رو به عقب (برگشت) EM-PC1consRD که بر اساس توالی منطقه حفاظت شده C_1 حاصل از توالی ۲۲ مکان مختلف ژن خودناسازگاری در پنج گونه در جنس پرونوس شامل بادام، گیلاس، زرد آلو و آلو طراحی شده‌اند (اورتگا و همکاران ۲۰۰۵)، استفاده می شود.

۱. آغازگر EM-PC2consFD : این آغازگر دژنره، مخلوطی از چهار توالی آغازگر می‌باشد.

۲. EM-PC2consFD : TCA GG TAT GCC ATG TYC CMA

EM-PC2consFD: TCA C (A/C) A T(C/T) C ATG GCC TAT GG

۳. آغازگر EM-PC3consFD :

این آغازگر از ترکیب ۳۲ آغازگر با توالی متفاوت از نظر یک نوکلئوتید تشکیل شده است که توالی هر کدام از این آغازگرها بر اساس مطابقت توالی ۲۷ آلل خود ناسازگاری از ۵ گونه جنس پرونوس و تعیین نواحی حفاظت شده در توالی آلل S در این گونه ها طراحی شده‌اند (ساترلند و همکاران ۲۰۰۴).

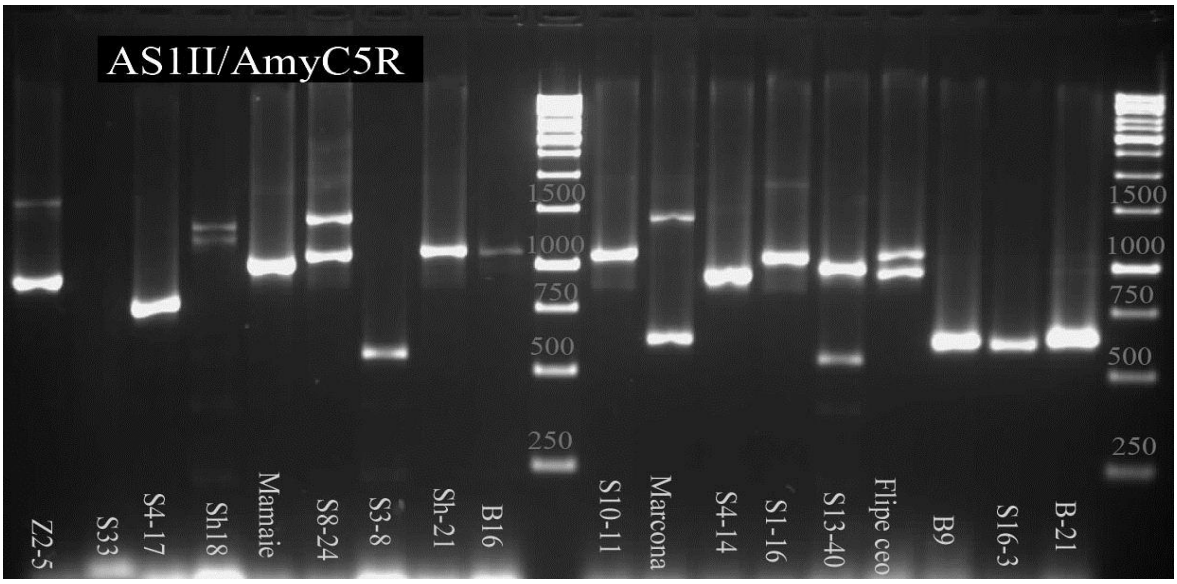
AWS-TRC-CRT-GYT-TGT-TCC-ATT-C :EM-PC3consRD

A(A/T)(C/G) T(A/G)C C(A/G)T G(C/T)TTGT TCC ATT C :EM-PC3consRD

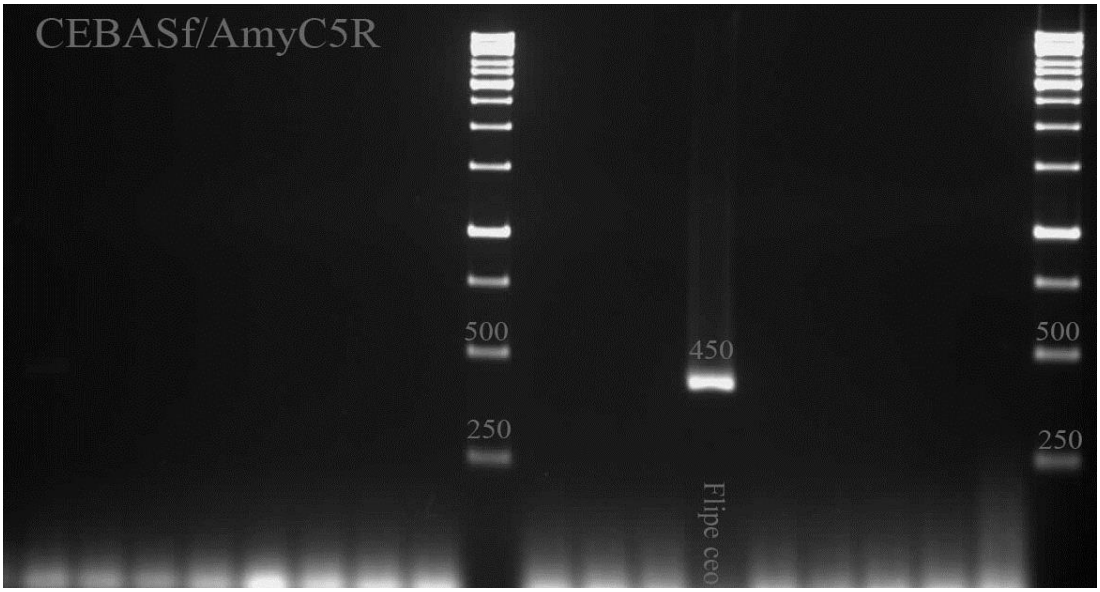
این آغازگرها در مقایسه با آغازگرهایی که توسط تائو و همکاران (۱۹۹۷) طراحی شده و برای شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در گیلاس، بادام و زرد آلو به کار رفتند، کارایی بیشتری داشتند (ساترلند و همکاران ۲۰۰۴). ترکیب های متفاوت آنها قادر به تکثیر توالی هدف در نواحی اینترون اول، دوم و مجموع دو اینترون خواهد بود. این آغازگرها قابلیت تکثیر آلل های S را در دامنه وسیعی از گو نه‌های پرونوس دارند و ترکیب دو آغازگر ساخته شده بر اساس مناطق حفاظت شده بخصوص آغازگرهای C2 وC3 قابلیت بالایی برای شناسایی آلل های S در ژرم پلاسم جدید جنس پرونوس می‌باشد تا به توان گروه‌های سازگار از نظر گرده افشانی را توصیه نمود. این آغازگرها همچنین برای تعیین آلل‌های S در نتاج حاصل از تلاقی‌های کنترل شده در برنامه اصلاحی مفید می‌باشند (اورتگا و همکاران ۲۰۰۵). این آغازگرها قابلیت بالایی در مطالعات ژنتیک جمعیت و جریان ژنی مربوط به آلل های S در جنس پرونوس دارند (سانولد و همکاران ۲۰۰۲ ، ساترلند و همکاران ۲۰۰۴). در جدول ۴ فهرستی از آغازگر های که برای آلل های مختلف استفاده شده آورده شده است. از این آغازگرهای می توان در تهیه شناسنامه آلل های خودسازگاری و خودناسازگاری ارقام تجاری و ژنوتیپ های بادام ایران استفاده کرد. بر اساس پژوهش های انجام شده در ایران با استفاده از شش جفت آغازگر عمومی و اختصاصی، محدوده بسیار متنوعی از آلل‌های خودناسازگاری و خودسازگاری در ژنوتیپ‌ها و دورگ های امیدبخش بادام ایران شناسایی شده است (احمدی و همکاران ۲۰۱۳، زین العابدینی و همکاران ۲۰۱۲، زین العابدینی و همکاران a,b۲۰۰۹) (شکل ۱۵ الی ۱۸).

جدول۳. نمونه‌ای از آغازگرهایی که برای آلل‌های مختلف استفاده شده است.

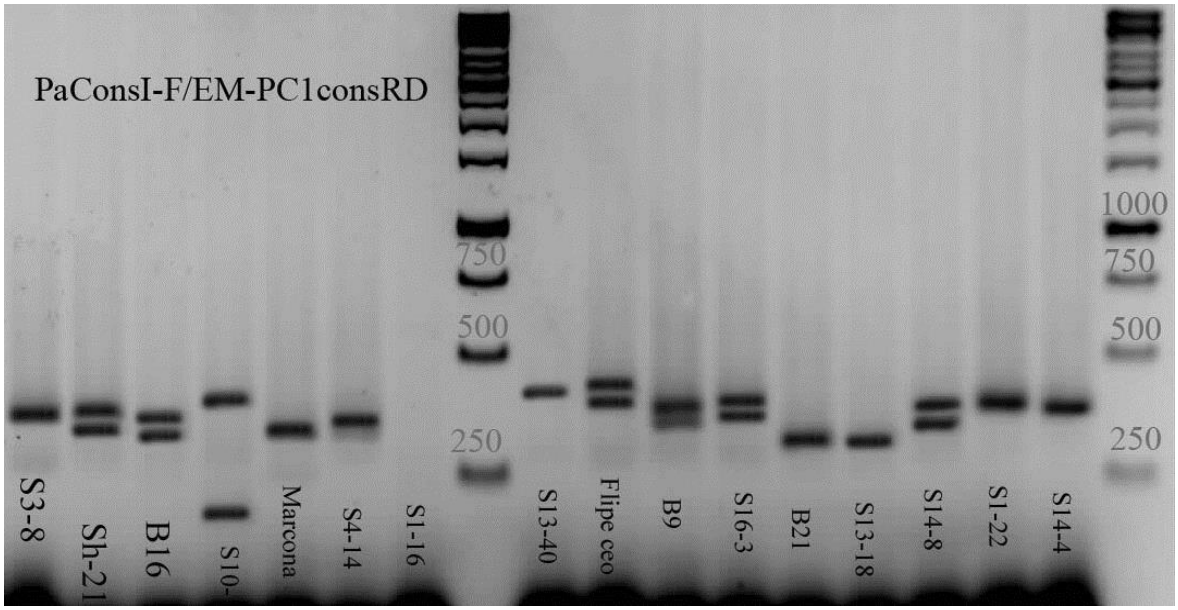
نوع آغازگر	آغازگر	منابع	توصیف مولکولی	Tm
آغازگرهای دژنره (اینترون اول)	PaConsI-F EM-PC1consRD	اورتگا و همکاران (۲۰۰۵)	5'-(C/A)CT TGT TCT TG(C/G) TTT (T/C)GC TTTCTT C-3' 5'-GCC A(C/T)T GTT G(A/C)A CAA A(C/T)T GAA-3'	۵۴/۷
آغازگرهای دژنره (اینترون اول و دوم)	PaConsI-F EM-PC3consRD	اورتگا و همکاران (۲۰۰۶)	5'-(C/A)CT TGT TCT TG(C/G) TTT (T/C)GC TTTCTT C-3' 5'-AWS-TRC-CRT-GYT-TGT-TCC-ATT-C-3'	۵۸
آغازگرهای دژنره (اینترون دوم)	EM-PC2consFD EM-PC3consRD	ساترلند و همکاران (۲۰۰۴)	5'-TCA-CMA-TYC-ATG-GCC-TAT-GG-3' 5'CAAAATACCACTTCATGTAACARC3'	۵۸
آغازگرهای عمومی	AS1II AmyC5R	تامورا و همکاران (۲۰۰۰)	TAT TTT CAA TTT GTG CAA CAA TGG CAAAATACCACTTCATGTAACAAC	۵۷
آغازگرهای اختصاصی	CEBASf AmyC5R	زین‌العابدینی و همکاران (۲۰۰۷b)	AGA TCT ATC ATT ATC TTA AGT CTG CAAAATACCACTTCATGTAACAAC	۵۷



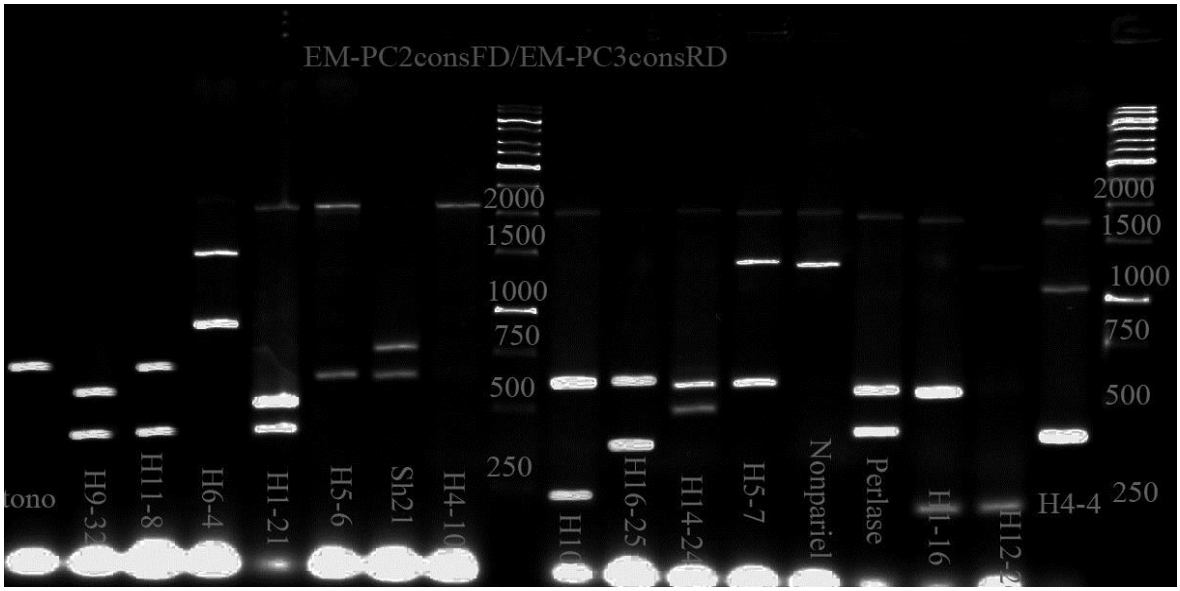
شکل۱۵. تکثیر به روش PCR آلل‌های ناسازگاری رقم های مختلف بادام با استفاده از آغازگرهای AS1II/AmyC5R .



شکل۱۶. تکثیر آلل خودسازگاری S_f توسط آغازگرهای اختصاصی CEBASf/AmyC5R



شکل ۱۷. تکثیر به روش PCR آلل‌های خودناسازگاری رقم‌های مختلف بادام با استفاده از آغازگرهای دژنره اینترون اول.



شکل ۱۸. تکثیر به روش PCR آلل‌های خودناسازگاری رقم‌های مختلف بادام با استفاده از آغازگرهای دژنره اینترون دوم.

- **مزایای اقتصادی استفاده از تلفیق روش های کلاسیک ، بیولوژیکی و مولکولی برای بهره مندی در برنامه های مدیریت گرده افشانی**
  - ایجاد بانک اطلاعاتی کامل از ترکیب آللی ارقام و ژنوتیپ های تجاری بادام در ایران، به منظور تعیین بهترین ترکیب کشت توأم ارقام در شرایط باغ (باتوجه به ترکیب های آللی ناسازگار، همپوشانی زمانی گلدهی آنها)، جهت دستیابی به گرده افشانی موفق و بالا بردن عملکرد باغ های بادام موثر می باشد.
  - تسریع در فرآیند گزینش نتاج حاصل از برنامه های اصلاحی ایجاد ارقام خودسازگار بادام و کاهش هزینه فرآیند اصلاحی.
  - با توجه به بهینه شدن این روش و امکان انجام آن با امکانات حداقلی آزمایشگاهی، می توان با کمک مراکز تحقیقاتی و سایر ایستگاه های متولی باغ های مادری و خزانه دارهای تولید کننده نهال، از این تکنیک در عرضه نهال مناسب جهت توسعه باغ های بادام کشور بطور موثری استفاده کرد.

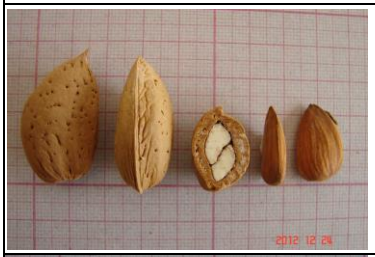
فصل چهارم- آشنایی با ارقام تجاری بادام مورد کشت در ایران

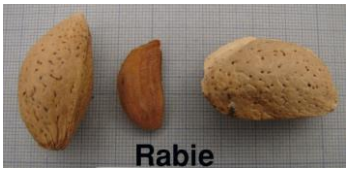
- **ارقام بادام معرفی شده و خصوصیات آنها**

انتخاب نوع رقم بادام تا حدودی با منطقه، نوع زمین و شرایط محل بستگی دارد. بطور کلی باید دانست که هر رقم بادام می تواند در آب و هوای معینی به نحو مطلوب پرورش یابد. به عنوان مثال، در مناطق سردسیری همانند آذربایجان و خراسان ارقام دیر گل مناسب ترند، ولی در مناطق معتدله متمایل به نیمه گرمسیری ارقام زودگل نیز می توانند مورد استفاده قرار گیرند. علاوه براین، باید در انتخاب ارقام، وضع بازار و به خصوص سلیقه بازار و مشتریان را در نظر گرفت و ترجیحاً ارقامی کشت شود که در بازار شناخته شده بوده و دارای قیمت بالاتری باشند. لذا برخی ارقام بادام در ایران برحسب مناطق عمده کشت گروه بندی شده اند که ذیلاً به آنها اشاره می گردد:

- ارقامی که عمدتاً در شمال غرب کشور(تبریز و اقلیم مشابه) کشت می شوند شامل: بادام رقم نان پاریل، سهند، آذر، شکوفه، A200 ،A230 ، آراز ، اسکندر(چایچی،۱۳۶۳، ایمانی، ۱۳۷۲، جلیل دژمپور۱۳۷۴، اسکندری،)
- ارقامی که عمدتاً در شمال غرب(دامنه البرز، کرج و اقلیم مشابه) کشور کشت می شوند شامل: بادام رقم نان پاریل، سهند، آذر، شکوفه، A200 ،A230 ، آراز ، اسکندر، صبا، آیدین، سوپرنووا و تونو، فرانیس، شاهرود ۲۱ و شاهرود۱۷(جدول ۴)
- ارقامی که در شمال شرق و مرکزکشور کشت می شوند شامل: بادام رقم شاهرود۱۲ (فرانیس)، شاهرود۱۸ (نان پاریل)، شاهرود۱۵، شاهرود۲۱ ، شاهرود۱۷ (جواهر ده و عباسپور ۱۳۷۶ ،۱۳۶۳، ایمانی، ۱۳۹۵) (جدول ۴)
- ارقامی که در استان های مرکزی کشور (چهار محال و بختیاری و اصفهان) کشت می شوند شامل: بادام رقم مامایی، بادام رقم ربیع و بادام رقم سفید(مرادی.و موسوی ۱۳۷۸)(جدول ۴). درجدول ۴ مشخصات ارقام بادام های مورد کشت در ایران(چایچی،۱۳۶۳، ایمانی، ۱۳۷۲، جلیل دژمپور۱۳۷۴، اسکندری، جواهر ده و عباسپور ۱۳۶۳، ایمانی وهمکاران ۱۳۸۸ ، مرادی.و موسوی ۱۳۷۸۱۳۹۵) ارائه شده است.

جدول -۴ خصوصیات مهم ارقام تجاری بادام در ایران

ردیف	رقم	ترکیب آللی	گرده زا	ویژگی های بارز و مزیت های رقم	تصویر
۱	سهند	*S1S2*	آیدین ، فرانیس، شکوفه، شاهرود ۷ و شاهرود ۸	رقم خودناسازگار با عادت رشد عمودی و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ، خیلی دیرگل، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه درشت با دو قلویی مغز زیاد و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی زیاد بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۲	آیدین		سهند، فرانیس، شکوفه، شاهرود ۷ و شاهرود ۸	رقم خودناسازگار با عادت رشد عمودی و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ، خیلی دیرگل، خیلی پربار و عادت باردهی تیپ اسپور، یوه درشت با پوست سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی ولی دارای تناوب باردهی زیاد و با مدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۳	شکوفه	*S24S27*	سهند، فرانیس و آیدین	رقم خودناسازگار با عادت رشد گسترده و با اندازه درخت کوچک و با شاخه های آویز، خیلی پربار و میوه کوچک با پوست کاغذی و درصد مغز بالا ولی برداشت میوه سخت و دارای تناوب باردهی زیادبوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد. قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی	
۴	صبا	*S9S24*	آراز، اسکندر و آذر	رقم خودناسازگار با عادت رشد گسترده و با اندازه درخت بزرگ ، دیرگل، پربار با عادت باردهی مخلوط و میوه درشت با پوست کاغذی و کیفیت میوه خوب و مناسب برای تازه خوری و دارای تناوب باردهی کم که با مدیرت باغبانی قابل رفع می باشد.	
۵	آذر	*S3S4*	صبا، اسکندر و آراز	رقم خودناسازگار با عادت رشد عمودی و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ، دیرگل، پربار با عادت باردهی مخلوط و میوه متوسط با پوست نیمه سخت و کیفیت میوه خوب و زودرس ولی دارای تناوب باردهی زیاد و بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی کم	
۶	مامایی	*S25S43*	ربیع و سفید	رقم خودناسازگار با عادت رشد گسترده و با اندازه درخت بزرگ ، خیلی زود گل، عادت باردهی تیپ یکساله، پربار با اندازه میوه درشت، دوقلویی مغز زیاد و خیلی سنگی و قابل توصیه برای کشت در مناطق بدون ریسک سرمازدگی	

۷	ربیع	*S7S27*	مامایی و سفید	رقم خودناسازگار با عادت رشد عمودی و با اندازه درخت بزرگ، خیلی زود گل، پر بار و عادت باردهی تیپ اسپور دوقلویی مغز زیاد و میوه خیلی سنگی و قابل توصیه برای کشت در مناطق بدون ریسک سرمازدگی	
۸	سفید	*S7S38*	ربیع و مامایی	رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه عمودی و با اندازه درخت متوسط تا بزرگ، خیلی زود گل، متوسط بار و عادت باردهی مخلوط، کیفیت میوه خیلی عالی و پوست میوه کاغذی ولی قابل توصیه برای کشت در مناطق بدون ریسک سرمازدگی	
۹	اسکندر	-	آراز، ا صبا و آذر	رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه گسترده و با اندازه درخت بزرگ، دیرگل، پربار با عادت باردهی مخلوط و میوه متوسط تا درشت با پوست کاغذی و کیفیت میوه خوب و زود رس و دارای تناوب باردهی کم که با مدیریت باغبانی قابل رفع می باشد.	
۱۰	آراز	-	صبا، اسکندر و آذر	رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه گسترده و با اندازه درخت بزرگ ، دیرگل، پربار با عادت باردهی مخلوط و میوه متوسط تا درشت با پوست کاغذی و زودرس ولی دارای تناوب باردهی کم و بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی کم	
۱۱	شاهرود ۷	*S1S4*	آیدین، فرانیس ، شاهرود ۸، شکوفه و سهند	خیلی دیرگل، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه درشت با دو قلویی مغز متوسط و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی زیاد بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۲	فرانیس(شاهرود ۱۲)	*S1S3*	آیدین ، شاهرود ۸، شکوفه و سهند	رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه عمودی تا عمودی و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ، خیلی دیرگل، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه درشت با دو قلویی مغز صفر و پوست چوبی نیمه سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی کم بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۳	شاهرود ۸	*S1S2*		رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه گسترده و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ ، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه درشت با دو قلویی مغز کم و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی کم تا متوسط بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۴	تونو	*S1Sf*	رقم خودسازگار است ولی به کار بردن گرده زا مثل	رقم خودسازگار با عادت رشد نیمه گسترده و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ ، دیر گل	

			شاهرود ۱۷و نان پاریل، باعث افزایش محصول می شود.	تا خیلی دیرگل، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه درشت با دو قلویی مغزمتوسط و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی کم بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۵	سوپرنوا	*S1Sf*	رقم خودسازگار است ولی به کار بردن گرده زا مثل شاهرود ۱۷و نان پاریل، باعث افزایش محصول می شود.	رقم خودنسازگار با عادت رشد نیمه گسترده و با اندازه درخت بزرگ، دیر گل تا خیلی دیرگل، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه درشت با دو قلویی مغزمتوسط و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی کم و دارای تناوب باردهی کم تا خیلی کم بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۶	شاهرود ۲۱	*S1S7*	صبا، آذر و یلدا، آراز و اسکندر	رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه عمودی و با اندازه درخت بزرگ، متوسط گل، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه متوسط با دو قلویی مغز زیاد و پوست چوبی نیمه کاغذی و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی خیلی کم و دارای تناوب باردهی زیاد تا خیلی زیاد بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۷	نان پاریل	*S7S8*	صبا، آذر و یلدا، آراز و اسکندر	رقم خودناسازگار با عادت رشد گسترده و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ ، متوسط گل تا دیرگل، پربار و عادت باردهی مخلوط و میوه متوسط با دو قلویی مغز کم و پوست چوبی نرم(پوست کاغذی)و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی کم و دارای تناوب باردهی خیلی کم بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۸	شاهرود ۱۵	*S8S13*	شاهرود ۱۷، نان پاریل، سوپرنووا و تونو	رقم خودناسازگار با عادت رشد گسترده و با اندازه درخت بزرگ تا خیلی بزرگ، دیرگل، پربار و عادت باردهی مخلوط و میوه خیلی کوچک تاکوچک با دو قلویی مغز کم و پوست چوبی نرم(پوست کاغذی)و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی کم و دارای تناوب باردهی خیلی کم بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۱۹	شاهرود ۱۷	*S7S3*	، نان پاریل، سوپرنووا و تونو، آراز	رقم خودناسازگار با عادت رشد گسترده و کمی با شاخه های آویز و با اندازه درخت متوسط، دیر گل تا خیلی دیرگل، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه متوسط با دو قلویی مغز کم و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی کم تا متوسط بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	

۲۰	A200	*S1S9*		رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه عمودی و با اندازه درخت بزرگ ، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه کوچک تا متوسط با دو قلویی مغز کم و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی خیلی کم بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	
۲۱	A230	*S2S9*		رقم خودناسازگار با عادت رشد نیمه گسترده و با اندازه درخت بزرگ ، پربار و عادت باردهی تیپ اسپور و میوه متوسط با دو قلویی مغز کم و پوست چوبی سخت و قابل توصیه برای کشت در مناطق با ریسک سرمازدگی و دارای تناوب باردهی خیلی کم تا متوسط بوده که بامدیریت باغبانی قابل تقلیل می باشد.	

منابع مورد استفاده

۱. ایمانی، ع. ۱۳۷۲ تعیین درصد آلوگامی و انتخاب بهترین پلن دهنده برای ارقام بادامهای دیرگل تجارتی انتخابی پایان نامه دوره کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

۲. ایمانی، ع.۱۳۷۶ بررسی تاثیر برخی صفات بیولوژیکی و فیزیولوژی بر روی عملکرد ارقام بادام انتخابی، پایان نامه دوره دکتری باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران.

۳. ایمانی، ع. ۱۳۷۹ اصلاح بادام (ترجمه)، چاپ اول، انتشارات نشر آموزش کشاورزی تهران، ۱۲۸صفحه.

۴. ایمانی، ع . ۱۳۸۳ . بیولوژی گلدهی میوه مناطق معتدله (ترجمه) . وزارت جهاد کشاورزی (معاونت باغبانی)

۵. ایمانی، ع قاسمی،ا.، مرادی،ح.، مظفری،م.، عدلی،م.، وظیفه شناس،م. وحامد دولتی بانه،ح. ۱۳۸۵ گزارش نهائی طرح تحقیقاتی شناسایی ،جمع آوری وارزیابی ارقام وگونه های بادام به منظور حفاظت وبهره برداری، نشریه شماره ۸۵،۲۵۰/۶۳ صفحه.

۶. ایمانی، ع. ، حسنی،د.، و حسین آوا س. ۱۳۸۸ برنامه راهبردی میوه های خشک . انتشارات موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر کرج ۱۳۱ صفحه

۷. ایمانی ع.، جعفر آقایی،م.، حسنی د.، دژمپور ج. و موسوی ا. ۱۳۹۰ . بررسی و تعیین پتانسیل باردهی درختان ارقام تجاری بادام در فصول و مراحل مختلف رشد – گزارش نهایی .۸۴ صفحه و شماره ثبت ۹۰/۴۲۶

۸. جواهر ده، م. و ا. عباسپور ۱۳۷۶ ارقام مناسب بادام در استان سمنان،چاپ اول، انتشارات مدیریت آموزش وترویج سازمان کشاورزی استان سمنان، ۹ صفحه

۹. جلیلی مرندی،ر. وج. حکیمی رضائی ۱۳۷۷ پرورش فندق، بادام، گردو (ترجمه)، انتشارات جهاددانشگاهی ارومیه، تبریز، ۲۰۴ صفحه

۱۰. چایچی،س. ۱۳۶۳ اصلاح بادام و تحقیقات انجام یافته در زمینه به نژادی آن، انتشارات موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر کرج، ۲۱ صفحه

۱۱. چایچی، س. ۱۳۶۶ ارقام بادامهای دیرگل، چاپ اول، نشریه شماره ۳، انشارات اداره ترویج سازمان کشاورزی استان آذربایجان شرقی، ۱۱ صفحه

۱۲. دژم پور، ج ۱۳۷۴ بررسی خواب فیزیولوژیکی چند رقم بادام تجارتی، پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

۱۳. دژم پور، . ج .۱۳۷۹ . اصلاح بادامهای خودسازگار (ترجمه) . نشر آموزش کشاورزی.

۱۴. رسول زادگان ، ی. ۱۳۷۰ میوه کاری در مناطق معتدله (ترجمه)،چاپ اول، انتشـارات دانشـگاه صـنعتی اصـفهان، ۷۵۶ صفحه.

۱۵. زین العابدینی، م. وع. ایمانی .۱۳۹۵. تهیه نقشه پیوستگی و مکان یابی ژنهای کنترل کننده زمان گلدهی در بادام با استفاده از نشانگرهای مولکولی . گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. ۸۴ صفحه شماره ثبت۵۰۴۵۳

۱۶. علیزاده س. س.، ارزانی ک.، ایمانی ع. ۱۳۸۸ تعیین دوره گرده افشانی موثر در بادام (*Prunus dulcis* Mill) دیرگل رقم شاهرود ۱۲ در شرایط آب و هوایی کرج. مجله علوم باغبانی ایران شماره ۲ ص۱تا۷

۱۷. علیرضا ط. و ایمانی ع. ۱۳۷۴. انتخاب ومعرفی تلقیح کننده های مناسب برای ارقام بادام دیـر گـل مجلـه علـوم کشاورزی ایران دوره ۳، شماره ۱ ص ۸۲ تا

۱۸. مرادی، ح.و ا. موسوی ۱۳۷۸ خصوصیات سه رقم بادام محلی چهارمحال بختیاری، خلاصه مقالات اولین همایش ملی بادام شهرکرد.

19. Ahmadi Nik, E., Zeinalabedini, M., Ebrahimi, M.A., Imani, A., Farsi, M., and Nazemi, Z. 2013. Identification of self-incompatibility and self-compatibility alleles in promising almond genotypes and hybrids using molecular markers. The 8th national Congress on Biotechnology, and 4th national biosafety congress. 6-8 July, Tehran-Iran.
20. Alonso, J.M. and Socias i Company, R. 2005b. Self-incompatibility expression in self-compatible almond genotypes may be due to inbreeding. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 130:865–869.
21. Alonso, J.M., Ansón, J.M., Espiau, M.T. and Socias i Company, R. 2005a. Determination of endodormancy break in almond fl ower buds by a correlation model using the average temperature of different day intervals and its application to the estimation of chill and heat requirements and blooming date. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 130:308–318.
22. Ardjmand N, Piri S, Imani A, Piri Sh 2014.Evaluation of Morphological and Pomological Diversity of 62 Almond Cultivars and Superior Genotypes in Iran.Journal of Nuts 5(1):39-50,
23. Barckley, K.K., S.L. Uratsu, T.M. Gradziel, and A.M. Dandekar .2006. Multidimensional analysis of S-alleles from cross-incompatible groups of California almond cultivars. J Amer Soc Hort Sci 131:632–636.
24. Boskovic R, Tobutt KR, Duval H, Batlle I, Dicenta F, Vargas FJ. 1999. A stylar ribonuclease assay to detect self-compatible seedlings in almond progenies. Theor Appl Genet 99:800-810.
25. Boskovic, R., K.R. Tobutt, I. Batlle and H. Duval. 1997. Correlation of ribonuclease zymograms and incompatibility genotypes in almond. Euphytica, 97: 167-176.
26. Boskovic, R., K.R. Tobutt. 1996. Correlation of stylar ribonuclease zymograms with incompatibility alleles in sweet cherry. Euphytica, 90: 245-250.
27. Dicenta, F., Ortega, E., Martinez-Gomez, P., Boskovic, R. and Tobutt, K. R. 2002.Comparison of homozygous and heterozygous self-compatible seedling in an almond breeding programme. Euphytica. 124, 23-27.
28. Godarzi, H., Imani, A., Zeinalabedini, M., Miri, S.M., AhmadiNik, E. 2013. Early screening of new self-compatible hybrids of almond using molecular markers. The 8th national Congress on Biotechnology, and 4th national biosafety congress. 6-8 July, Tehran-Iran.
29. Fallah M., Rasouli M., Sharafi1Y., Imani A.2014Study of Compatibility Relationships Among Some Almond Cultivars and Genotypes Using of SAlleles Identification . Journal of Nuts 5(2):49-56.

30. Griggs, W.H. and B.T. Iwakiri. 1964. Timing is critical for effective cross-pollination of almond flowers. Calif. Agr. 18(1):6–7.
31. Halasz J, Fodor A, Hegedus A, Pedryc A .2008. Identification of a new self-incompatibility allele (S31) in a Hungarian almond cultivar and its reliable detection. Sci Hort 116:448-451.
32. Halasz, J., A. Hegedus and A. Pedryc. 2006. Review of the molecular background of self-incompatibility in rosaceous fruit trees. International Journal of Horticultural Science, 12(2): 7-18.
33. Hill, S.J., Stephenson, D.W., Tylor, B.K. 1985. Almond pollination studies: pollen production and viability, flower emergence and cross- pollination tests'.Australian Journal of Experimental Agriculture,25: 697–704.
34. Imani, A., Godarzi, H., Miri, S.M., and Zeinalabedini, M. 2014. Evaluation, Identification and heritability of Self-compatibility and –incompatibility and morphological traits in almond hybrids using molecular and morphological characteristics. Biotechnology of Tarbiyat Modares University. 5 (2): 29-44.
35. Kster, D.E. and R.A.Asay 1975. Almond breeding.p.382-719.Inj Janick and J.N.Moore (eds) Advances in fruit breeding.purdue university press.west lafa yette IN.
36. Kester, D.E., Gradziel, T.M., 1996. Almonds (Prunus). In: Moore, J.N., Janick, J. (Eds.), Fruit Breeding. Wiley & Sons, New York, USA, pp. 1–97.
37. Kodad, O., Sa´ nchez, A., Saibo, N., Oliveira, M.M., Socias i Company, R., 2008. Identification and characterization of new S alleles associated with self-incompatibility in almond. Plant Breed. 127, 632–638.
38. Lopez M, Mnejja M, Rovira M, Collins G, Vargas FJ, Arus P, Batlle I .2004. Self-incompatibility genotypes in almond reevaluated by PCR, stylar ribonucleases, sequencing analysis and controlled pollinations. Theor Appl Genet 109:954-964.
39. Lopez M, Vargas FJ, Batlle I .2006. Self (in) compatibility almond genotypes: A review. Euphytic 150:1-16
40. Ma R, Oliveira MM .2001. Molecular cloning of the selfincompatibility genes S1 and S3 from almond (Prunus dulcis cv. Ferragnès). Sex Plant Reprod 14:163-167
41. Martínez-Gómez, P., A.M. Dandekar, T.M. Gradziel, M. López, I. Batlle, J.M. Alonso, E. Ortega, R. Sánchez-Pérez, F. Dicenta and R. Socías i Company. 2003. Identification of self-incompatibility alleles in almond and related Prunus species using PCR. Acta Hort., 622: 397-401.
42. Mcgregor, S.E. 1976. Insect pollination of cultivated crop plants.USDA, Tucson, Arizona
43. Najafi, P., Imani, A., Miri, S.M., Zinalabdini, M. 2015. Identification and Screening of Homozygous and Heterozygous Almond Progenies from Self-Pollinated Touno Cultivar Using PCR. Journal of Nuts. 6(2):155-164.
44. Nettancourt de, D. 1997. Incompatibility in angiosperms. Sex. Plant Report. 10:185-199.
45. Ortega, E., B.G. Sutherland, F. Dicenta, R. Boˇskovi´c & K.R. Tobutt, 2005. Determination of incompatibility genotypes in almond using first and second intron consensus primers: detection of new S alleles and correction of reported S genotypes. Plant Breeding124: 188–196.
46. Ortega, E., Bošković, R., Sargent, D.J. and Tobutt, K.R. 2006. Analysis of S -RNase alleles of almond (Prunus dulcis): characterization of new sequences, resolution of new synonyms and evidence of intragenic recombination. Mol. Genet. Genomics 276:413–426.
47. Ortega, E., Dicenta, F., 2003. Inheritance of self-compatibility in almond: breeding strategies to assure self-compatibility in the progeny. Theor. Appl. Genet. 106, 904–911.
48. Ortega, E., Dicenta, F., 2004. Suitability of four different methods to identify self-compatible seedlings in an almond breeding programme. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 79, 747–753.
49. Rasouli, M., Imani A.2016.Effect of supplementary pollination by different pollinizers on fruit set and nut physicochemical traits of 'Supernova', a self-compatible almond. Fruits,71(5):299-306.
50. Sánchez-Pérez, R., F. Dicenta and P. Martínez-Gómez. 2004b. Identification of S-alleles in almond using multiplex-PCR. Euphytica, 138: 263-269.
51. Sánchez-Pérez, R., F. Dicenta, T.M. Gradziel, P. Arús and P. Martínez-Gómez. 2004a. Application of molecular markers in almond breeding programmes. Nucis-Newsletter, 12: 9-12.
52. Somerville, D. 2007. Review of supply of honeybees for the pollination of almonds. TimberCorp.
53. Sanchez-Perez, R., W. Howard, F. Dicenta, P.Arus and P. Martinez-Gomez. 2007. Mapping major genes and quantitative trait loci controlling Agronomic traits in almond. Plant Breed. 125: 310- 318.

54. Sedgley, M. 1994. Self-incompatibility in woody horticultural species., In: Genetic Control of Self-incompatibility and Reproductive Development in Flowering Plants. E. G.Willioms et al.(eds.) Kluwer Academic Publishers, Netherlands, P:141-163.
55. Sonneveld T .2002. The molecular genetics of self-incompatibility in sweet cherry (Prunus avium). PhD Thesis, University of Nottingham, UK Socias i Company R .1990. Breeding self-compatible almonds. Plant Breed Rev 8:313–318.
56. Socias i Company R. and Thomas M. G.2017.Almonds:botany, production and uses. CABI Nosworthy Way Wallingford ,Oxfordshire OX10 8DE UK
57. Sutherland, B.G., K. R. K.R. Tobutt and T.P. Robins. 2008. Tras-specific S-RNase and SFB in Prunus self-incompatible haplotypes. Mol. Genet. Genomics, 279: 95-106.
58. Sutherland, B.G., Robbins, T.P., Tobutt, K.R., 2004. Primers amplifying range of Prunus S-alleles. Plant breeding 123, 582–584. Sanchez-Perez R, Dicenta F, Martinez-Gomez P .2004. Identification of S-alleles in almond using multiple-PCR. Euphytic 138:263-269.
59. Sutherland, B.G., T.P. Robbins and K.R. Tobutt. 2004. Primers amplifying a range of Prunus S-alleles. Plant Breeding, 123:582-584.
60. Tamura M, Ushijima K, Sassa H, Hirano H, Tao R, Gradziel TM, Dandekar Am .2000. Identification of self – incompatibility genotypes of almond by allele- specific PCR analysis. Theor Appl Genet 101:344-349.
61. Tao R, Yamane H, Sassa H, Mori H, Gradziel TM, Dandekar AM, Sugiura A .1997. Identification of stylar RNases associated with gametophytic self-incompatibility in almond (Prunus dulcis). Plant Cell Physiol 38:304-311.
62. Wei, X., D. Kuhn, G. arasimhan. 2003. Degenerate primer design via clustering. Proceedings of the 2d IEEE Computer Society Bioinformatics Conference (CSB 2003), 75-83.
63. Zeinalabedini, M., KhayamNekoui, M., and Martínez-Gómez P. 2009a. Identification of self-incompatibility and self-compatibility alleles in almonds and some Prunus species using simple and multiplex PCR. 20th FCSSP Silliman University, Dumaguete City. PHILIPPINES.
64. Zeinalabedini, M., Khayam-Nekoui, M., Nakhoda, B., and Martinez-Gomez, P. 2009b. Identification of self-compatibility and self-incompatibility alleles in almond cultivars using molecular markers. The 6th national Congress on Biotechnology, 13-15August, Tehran-Iran.
65. Zeinalabedini, M., Majourhat, K., Khayam-Nekoui, M., Grigorian, V., Torchi, M., Dicenta, F., and Martinez-Gomez, P. 2008. Comparison of the use of morphological, protein and DNA markers in the genetic characterization of Iranian wild Prunus species. Scientia Horticulturae 116: 80–88.
66. Zeinalabedini, M., Seyed M. Khayam Nekoui, Imani, A., Majidian, P., and Dejampour, J. 2012. Identification of Self-Compatibility and Self-Incompatibility Genotypes in Almond and some Prunus Species Using Molecular Markers. Seed and Plant Improvement Journal. 1-28(2): 227-238.
67. Zhang, S.J., S.X. Huang, W. Heng, H. Q. Wu, J. Wu and S.L. Zhang. 2008. Identification of self- S-genotypes in 17 Chinese cultivars of Japanese plum (prunus salicina Lind1.) and molecular characterization of 13 novel S-alleles. J.Hort. Sci. and Biotech. 83(5): 635-640.
68. Vezvaei, A. 1994. Pollination studies in almond. Thesis (Ph.D.)--University of Adelaide, Dept. of Horticulture, Viticulture and Oenology,