" نهال و بذر"
جلد ٢٤ ، شماره ٣، سال ١٣٨٧

مطالعه آلل‌های ناسازگاری برخی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی(*Pyrus serotina* Rehd.) به کمک روش PCR

Study of Incompatibility S Alleles in some Asian Pear (*Pyrus serotina* Rehd.) Genotypes by PCR Technique

محمود کوشش صبا[1] ، کاظم ارزانی[2] و مختار جلالی جواران[2]

۱- دانشجوی سابق دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۲- به ترتیب دانشیار و استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸٦/۱۰/۲۷

چکیده

کوشش صبا، م.، ارزانی، ک.، و جلالی جواران، م. ۱۳۸۷. مطالعه آلل‌های ناسازگاری برخی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی(*Pyrus serotina* Rehd.) به کمک روش PCR. **نهال و بذر ٢٤**: ۴۵۶-۴۴۵.

یکی از عوامل ژنتیکی مهم که میوه‌دهی گلابی آسیایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد ناسازگاری گرده است. به منظور بررسی آلل‌های ناسازگاری در تعدادی از ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی، این آزمایش انجام شد. برای این منظور دی.ان.ای (DNA) ژنومی نه ژنوتیپ گلابی آسیایی (KS_6، KS_7، KS_8، KS_9، KS_{10}، KS_{11}، KS_{12}، KS_{13} و KS_{14}) و دو هیبرید بین آن‌ها از برگ‌های جوان جداسازی شد و از آن‌ها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، جهت تکثیر آلل‌های ناسازگاری استفاده شد. نتایج نشان داد که آغازگرهای مورد نظر توانستند آلل‌های ناسازگاری را در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تکثیر کنند. آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های KS_6، KS_7، KS_8، KS_9، KS_{10}، KS_{11} و KS_{12} یک جفت از آلل‌های S_1 یا S_3 تا S_7 بودند و یک آلل ناسازگاری ژنوتیپ‌های KS_{13} و KS_{14}، S_2 و آلل دیگر آن S_1 یا S_3 تا S_7 تعیین شد. روش PCR برای تعیین وضعیت ناسازگاری سریع‌تر و راحت‌تر از سایر روش‌ها است که تحت تاثیر عوامل مرتبط با گرده‌افشانی قرار نمی‌گیرد.

کلمات کلیدی: گلابی آسیایی، *Pyrus serotina* Rehd.، ناسازگاری گرده، نشانگر مولکولی، آلل‌های ناسازگاری.

نویسنده مسئول: arzani_k@modares.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) بخش مهمی از گلابی‌های دنیا را تشکیل می‌دهد (Nee *et al*., 2002) از نام‌های متداول آن گلابی چینی و ژاپنی است. گلابی‌های آسیایی باردهی خوبی دارند و میوه‌های آن دارای بافت ترد و سفت است و عمر انباری بالایی دارند. میوه‌های آن آبدار هستند و رنگ پوست از زرد تا قرمز متمایل به قهوه‌ای در آن‌ها دیده می‌شود (Arzani, 2002). به خاطر این خصوصیات امروزه در دنیا به این محصول توجه زیادی می‌شود و تقاضا برای این میوه، رو به افزایش است. در ایران با توجه به توانائی‌های موجود در بخش میوه‌کاری، به منظور ارزیابی بعضی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی در شرایط مختلف آب و هوایی ایران، در قالب طرح ملی گلابی، چند رقم از کشور بلژیک وارد ایران شده و آزمایش‌هائی روی آنها در حال انجام است (Arzani, 2002).

میوه‌دهی گلابی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار دارد. یک عامل ژنتیکی مهم، خودناسازگاری است که در آن درخت قادر به باروری با گرده خود نمی‌باشد (Haring *et al*., 1990). ناسازگاری در تیره گل سرخ هوموموروفیک و از نوع گامتوفیتیک است و به وسیله یک مکان ژنی چند آللی کنترل می‌شود. مکان ژنی کنترل‌کننده ناسازگاری (S) خودناسازگاری و دگر ناسازگاری را کنترل می‌کند. (De Nettancourt, 1997). بیان و ظهور ناسازگاری در گلابی آسیایی نه تنها با شرایط محیطی بلکه به حالت‌های فیزیولوژیک گیاه بستگی دارد (Hiratsuka and Zhang, 2002). تفاوت ارقام گلابی در میوه‌دهی بعد از خود گرده‌افشانی به وسیله محققین زیادی گزارش شده است. برای تعیین خودناسازگاری و دگرناسازگاری روش‌های مختلفی وجود دارد، از جمله این روش‌ها می‌توان به ارزیابی تعداد میوه تشکیل شده، بررسی رشد لوله گرده در تخمدان (Koushesh Saba *et al*., 2006)، روش‌های مولکولی مانند شناسایی آلل‌های مربوط به ناسازگاری (Sassa *et al*., 1994; Ishimizu *et al*., 1999) و روش‌های بیوشیمیایی مانند تجزیه گلیکوپروتئین‌های خامه (SRNase) اشاره کرد (Tomimoto *et al*., 1996؛ Zuccherelli *et al*., 2002). شناسایی آلل‌های S بسیار مفید بوده و یک روش مفید را برای انتخاب صحیح گرده‌دهنده و ژنوتیپ‌های مادری در برنامه اصلاحی فراهم آورده است. این روش در مشخص کردن شجره‌نامه و منشأ بعضی ژنوتیپ‌ها نیز مفید است (Tehrani and Lay, 1988). آلل‌های S و گروه‌های ناسازگاری تعدادی از درختان میوه مانند گیلاس (Wiersma *et al*., 2001)، بادام (Tamura *et al*., 2000)، سیب (Janssens *et al*., 1995)، گلابی آسیایی

Archive of SID

www.SID.ir

(Ishimizu *et al.*, 1999) و زردآلو (Burgos *et al.*, 1998) به وسیله روش‌های تلاقی و اخیراً با استفاده از روش‌های مولکولی گزارش شده است. مزیت روش‌های مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Polymerase chain reaction: PCR) در آن است که به درخت بالغ و گل برای تعیین ناسازگاری نیازی نیست و با مقدار کمی از بافت گیاهی می‌توان آلل‌های ناسازگاری را در ژنوتیپ مورد مطالعه تعیین کرد.

امروزه در دنیا در بخش میوه‌کاری تحقیق روی پایین آوردن هزینه تولید است. با توجه به این که ارقام خودناسازگار برای تولید مطلوب نیاز به دگرگرده افشانی دارند، عدم اطلاع از این موضوع و کشت باغ از یک رقم باعث میوه‌دهی ضعیف می‌شود. پژوهش حاضر به منظور بررسی و تعیین آلل‌های ناسازگاری بر روی بعضی از ارقام گلابی آسیایی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در دانشکده کشاورزی و آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. در این پژوهش از پایه‌های مادری گلابی آسیایی که در سال ۱۹۹۸ توسط گروه باغبانی دانشگاه تربیت مدرس (طرح ملی شماره ۴۲۲۵) از کشور بلژیک وارد کشور شد (Arzani, 2002) و دو رقم هیبرید بین آن‌ها استفاده شد. هیبرید ۱ حاصل تلاقی ژنوتیپ‌های KS_{13} به عنوان پایه مادری و KS_8 به عنوان پایه پدری و هیبرید ۲ حاصل تلاقی ژنوتیپ‌های KS_{13} به عنوان پایه مادری و KS_{11} به عنوان پایه پدری بود. به منظور استخراج دی.ان.ای (DNA) ژنومی از رقم‌های مذکور، نمونه‌هایی از برگ‌های جوان آن‌ها تهیه و در کمترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شد و بلافاصله با نیتروژن مایع منجمد شدند. با توجه به این که برگ‌های گلابی دارای مقادیر زیادی پلی ساکارید و مواد فنلی هستند، برای استخراج دی.ان.ای مطلوب از روش CTAB (Doyle and Doyle, 1990) با کمی تغییرات استفاده شد و کیفیت و کمیت دی.ان.ای استخراجی با روش الکتروفورز در ژل آگارز و دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد. برای بررسی آلل‌های ناسازگاری، روش مولکولی پی.سی.آر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی طراحی شده برای آلل‌های ناسازگاری به کار گرفته شد. انتخاب آغازگرها با استفاده از مطالعه روی توالی‌های گزارش شده برای آلل‌های ناسازگاری در منابع و بانک ژن (pubmed.com) و نیز آغازگرهایی که تاکنون در موارد مشابه به کار برده شده (Castillo *et al.*, 2002 ؛Kim *et al.*, 2002) و کنترل صحت توالی آن‌ها با نرم افزار Gene runner انجام شد. در نهایت سه جفت آغازگر اختصاصی زیر جهت تکثیر آلل‌های ناسازگاری مورداستفاده قرار گرفت (در هر کدام از جفت پرایمرهای اشاره شده، پرایمر اول پیش رو و

Archive of SID

www.SID.ir

دومی معکوس است).

A: 5'-CAATTTACGCAGCAATATCAG-3'

و B: 5'-CTTTTGGCACTTGAATTTTGG-3'

C: 5'-TTTACGCAGCAATATCAG-3'

و D: 5'-ACATTCGGCCAAATAATT-3'

E: 5'-TGCCTCGCTCTTGAACAAA-3'

و F: 5'-ACATTCGGCCAAATAATT-3'

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۲۵ میکرولیتر با اجزای ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰برابر، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیوم، ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط نوکلئوتیدی، ۰/۵ میکرومولار آغازگر، ۱۰ نانوگرم دی.ان.ای الگو، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تک دی.ان.ای پلی‌مراز ۵ واحدی و آب مقطر انجام شد. برای جلوگیری از تکثیر غیر اختصاصی علاوه بر آلل‌های موردنظر، دماهای اتصال مختلف مورد استفاده قرار گرفت و در نهایت برنامه تکثیر شامل واسرشته‌سازی اولیه دی.ان.ای ژنومی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه شامل واسرشته‌سازی دی.ان.ای ژنومی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگر به رشته الگو در ۵۵/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ دقیقه، بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و بسط نهایی در۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه به کار گرفته شد. محصولات تکثیری با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید. برای رنگ‌آمیزی ژل از محلول اتیدیوم بروماید استفاده شد و مشاهده ژل و عکس‌برداری از آن با دستگاه ژل داک و با استفاده از نور ماوراء بنفش انجام شد.

نتایج و بحث

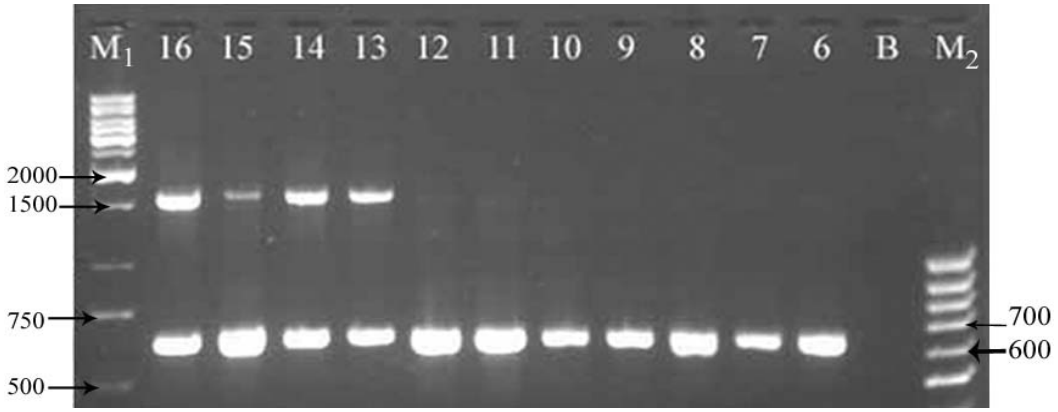
در آزمایش اول از آغازگر A به عنوان پیش‌رو و از آغازگر B به عنوان معکوس استفاده شد. این جفت آغازگرها توانستند ژن خودناسازگاری تمامی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه را تکثیر کنند (شکل ۱). در ژنوتیپ‌های KS6، KS7، KS8، KS9، KS10، KS11 و KS12 قطعه‌ای بین ۷۰۰-۶۰۰ جفت باز و در ارقام KS13، KS14، هیبرید ۱ و هیبرید ۲ علاوه بر قطعه اول، قطعه دیگر با اندازه ۱۶۰۰ جفت باز تشکیل شد (شکل ۱ و جدول ۱).

جفت آغازگر C به عنوان پیش رو و D به عنوان معکوس آلل‌های ناسازگاری را در ژنوتیپ‌های گلابی مورد مطالعه تکثیر کردند (شکل ۲). در ارقام KS_6، KS_7، KS_9، KS_{10}، KS_{11} و KS_{12} قطعه‌ای بین ۴۰۰-۳۰۰ جفت باز در KS_8 دو قطعه بسیار نزدیک به هم بین ۴۰۰-۳۰۰ جفت باز و در ژنوتیپ‌های KS_{13}، KS_{14}، هیبرید ۱ و هیبرید ۲ هر کدام دو قطعه یکی بین ۴۰۰-۳۰۰ جفت باز و قطعه دیگر با اندازه ۱۳۰۰ جفت باز تکثیر شد (شکل ۲ و جدول ۱).

با استفاده از جفت آغازگر E به عنوان پیش‌رو و F به عنوان معکوس در ژنوتیپ‌های KS_6، KS_7، KS_9، KS_{10}، KS_8، KS_{11} و KS_{12} قطعه‌ای بین ۵۰۰-۴۰۰ جفت باز و در ژنوتیپ‌های KS_{13}، KS_{14}، هیبرید ۱ و هیبرید ۲

Archive of SID

www.SID.ir

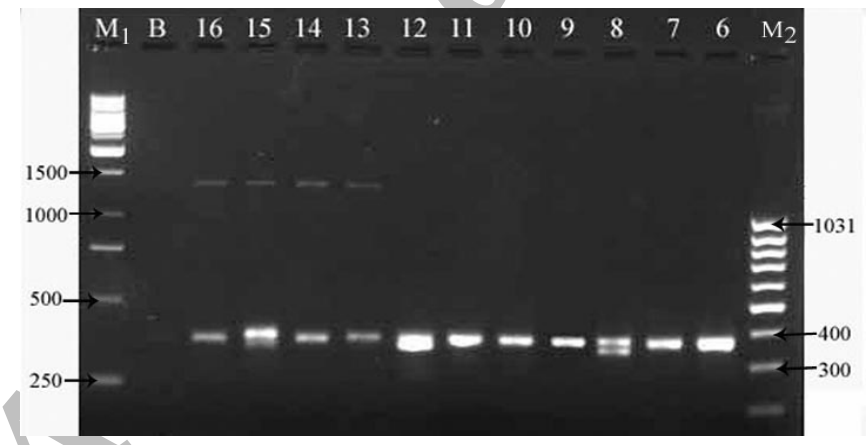


شکل۱- الگوی نواری آلل های ناسازگاری ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از جفت آغازگر A و B

M1، نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سنگین، M2 – نشانگر وزن ملکولی نسبتاً سبک، B- ۶ – کنترل منفی، KS_6 -۷، KS_7 ، KS_8 -۸ ، KS_9 -۹، KS_{10} -۱۰، KS_{11} -۱۱، KS_{12} -۱۲، KS_{13} -۱۳، KS_{14} -۱۴، هیبرید ۱ و ۱۶- هیبرید ۲، ۱۵-

Fig. 1. Incompatibility alleles banding pattern of studied Asian pear cultivars using A and B primer pair

M1- High range molecular marker, M2- Low range molecular markers, B-Negative control, 6- KS_6 , 7- KS_7 , 8- KS_8 , 9- KS_9 , 10- KS_{10} , 11- KS_{11} , 12- KS_{12} , 13- KS_{13} , 14- KS_{14} , 15- Hybrid 1 and 16- Hybrid 2



شکل۲- الگوی نواری آلل های ناسازگاری ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از جفت آغازگر C و D

M1، نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سنگین، M2 – نشانگر وزن ملکولی نسبتاً سبک، B- ۶ – کنترل منفی، KS_6 -۷، KS_7 ، KS_8 -۸ ، KS_9 -۹، KS_{10} -۱۰، KS_{11} -۱۱، KS_{12} -۱۲، KS_{13} -۱۳، KS_{14} -۱۴، هیبرید ۱ و ۱۶- هیبرید ۲، ۱۵-

Fig. 2. Incompatibility alleles banding pattern of studied Asian pear cultivars using C and D primer pair

M1- High range molecular marker, M2- Low range molecular markers, B-Negative control, 6- KS_6 , 7- KS_7 , 8- KS_8 , 9- KS_9 , 10- KS_{10} , 11- KS_{11} , 12- KS_{12} , 13- KS_{13} , 14- KS_{14} , 15- Hybrid 1 and 16- Hybrid 2

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- طول قطعات حاصل از PCR با استفاده از آغازگرهای مورد استفاده بر اساس جفت باز

Table 1. PCR fragments size (base pair) amplified by used primers

ژنوتیپ Genotype	Fragment size (bp) طول قطعات (جفت باز)		
	آغازگرهای A و B A and B primers	آغازگرهای C و D C and D primers	آغازگرهای E و F E and F primers
KS_6	600-700	300-400	500
KS_7	600	300	500
KS_8	600	300	500
KS_9	600	300	500
KS_{10}	600	300	500
KS_{11}	600	300	500
KS_{12}	600	300	500
KS_{13}	600-700 and 1500-2000	300-400 and 1300	500 and 1500
KS_{14}	600-700 and 1500-2000	300-400 and 1300	500 and 1500
Hybrid 1	600-700 and 1500-2000	300-400 and 1300	500 and 1500
Hybrid 2	600-700 and 1500-2000	300-400 and 130	500 and 1500

هر کدام دو قطعه یکی بین ۵۰۰-۴۰۰ جفت باز و قطعه دیگر با اندازه ۱۵۰۰ جفت باز تکثیر شد (شکل ۳ و جدول ۱).

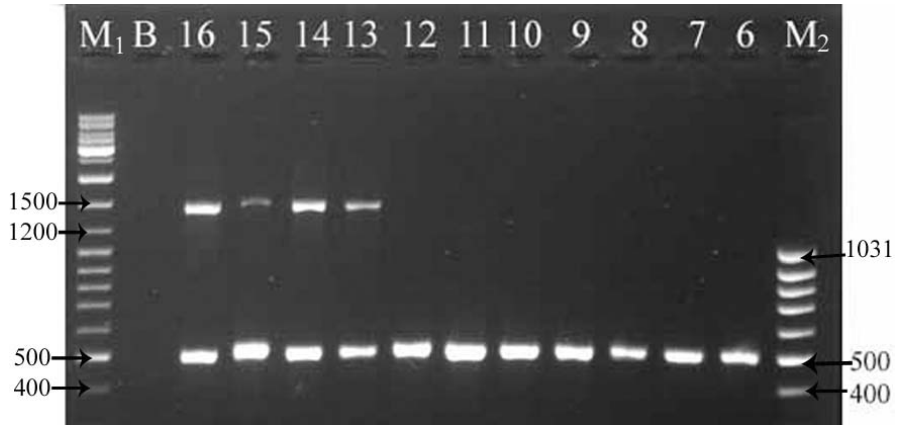
به طور کلی آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش توانستند آلل‌های مورد نظر را تکثیر کنند. نتایج نشان داد که در اکثر موارد آلل ناسازگاری بین آن‌ها وجود دارد و طول قطعات حاصل در جدول ۱ آمده است.

دراستفاده از جفت آغازگر اول برای بررسی آلل‌های ناسازگاری، انتظار می‌رفت بر اساس نتایج کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2002) قطعه‌ای با طول ۶۲۹ جفت باز مربوط به آلل S_1، ۱۶۰۰ جفت باز مربوط به آلل S_2 و قطعه‌ای بین ۶۳۸-۶۱۲ جفت باز مربوط به آلل‌های S_3 تا S_7 تکثیر شود. با توجه به نتایج این جفت آغازگر چنین پیش‌بینی می‌شود که در ژنوتیپ‌های KS_6، KS_7، KS_8، KS_9، KS_{10}، KS_{11} و KS_{12} آلل S_2 وجود نداشته و احتمالاً آلل ناسازگاری این ژنوتیپ‌ها S_1 یا S_3 تا S_7 باشد. یکی از آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های KS_{13}، KS_{14}، هیبرید ۱ و هیبرید ۲، S_2 و آلل دیگر آن‌ها یکی از آلل‌های S_1 یا S_3 تا S_7 است (شکل ۱ و جدول ۲).

با توجه به مطالعات کاستیلو و همکاران (Castillo *et al.*, 2002) پیش‌بینی می‌شد که جفت آغازگر دوم بتوانند آلل‌های S_1 تا S_8 خود ناسازگاری را تکثیر کنند و قطعاتی با اندازه‌های ۳۷۰-۳۵۰ جفت باز مربوط به S_1،

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- الگوی نواری آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از جفت آغازگر E و F

M1- نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سنگین، M2 - نشانگر وزن ملکولی نسبتاً سبک، B- کنترل منفی، ۶- KS_6، ۷- KS_7، ۸- KS_8، ۹- KS_9، ۱۰- KS_{10}، ۱۱- KS_{11}، ۱۲- KS_{12}، ۱۳- KS_{13}، ۱۴- KS_{14}، ۱۵- هیبرید ۱ و ۱۶- هیبرید ۲

Fig. 3. Incompatibility alleles banding pattern of studied Asian pear cultivars using E and F primer pair

M1- High range molecular marker, M2- Low range molecular markers, B-Negative control, 6- KS_6 , 7- KS_7 , 8- KS_8 , 9- KS_9 , 10- KS_{10} , 11- KS_{11} , 12- KS_{12} , 13- KS_{13} , 14- KS_{14} , 15- Hybrid 1 and 16- Hybrid 2

جدول ۲- پیش بینی آلل‌های ناسازگاری در ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از نتایج حاصل از آغازگر A و B

Table 2. Prediction of Asian pear cultivars incompatibility S alleles by using the results of A and B primers

ژنوتیپ Genotype	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5	S_6	S_7	ژنوتیپ ناسازگاری احتمالی Incompatibility genotype
KS_6	+	-	+	+	+	+	+	$S_?S_?$
KS_7	+	-	+	+	+	+	+	$S_?S_?$
KS_8	+	-	+	+	+	+	+	$S_?S_?$
KS_9	+	-	+	+	+	+	+	$S_?S_?$
KS_{10}	+	-	+	+	+	+	+	$S_?S_?$
KS_{11}	+	-	+	+	+	+	+	$S_?S_?$
KS_{12}	+	-	+	+	+	+	+	$S_?S_?$
KS_{13}	+	++	+	+	+	+	+	$S_2S_?$
KS_{14}	+	++	+	+	+	+	+	$S_2S_?$
Hybrid 1	+	++	+	+	+	+	+	$S_2S_?$
Hybrid 2	+	++	+	+	+	+	+	$S_2S_?$

+: احتمالاً این آلل وجود دارد؛ ++: این آلل وجود دارد؛ -: این آلل وجود ندارد؛ ؟: نوع آلل مشخص نشده است.

+: Probably this allele exists; ++: This allele exists; -: This allele dose not exist; ?: The allele was not determinated

Archive of SID

www.SID.ir

۱۳۰۰ جفت باز مربوط به S_2، ۳۷۰-۳۵۰ جفت باز مربوط به S_3 تا S_7 و ۴۳۶ جفت باز مربوط به S_8 به دست آید. نتایج به دست آمده از آغازگر C و D با نتایج جفت آغازگر اول مطابقت داشت. بر اساس نتایج حاصل از جفت آغازگر دوم چنین پیش‌بینی می‌شود که یکی از آلل‌های ناسازگاری ژمونیپ‌های KS_{13}، KS_{14}، هیبرید ۱ و هیبرید ۲، S_2 بوده و آلل دیگر آن‌ها یکی از آلل های S_1 یا S_3 تا S_7 باشد. نتایج نشان داد که در هیچ یک از ارقام مورد مطالعه آلل S_8 وجود نداشت، زیرا طول قطعه مورد انتظار برای این آلل ۴۳۶ جفت باز بود که در هیچ کدام از ارقام مورد مطالعه مشاهده نشد (شکل ۲). در ژنوتیپ‌های KS_6، KS_7، KS_8، KS_9، KS_{10}، KS_{11} و KS_{12} آلل S_2 وجود نداشت و پیش‌بینی می‌شود احتمالاً آلل ناسازگاری این ژنوتیپ‌های S_1 یا S_3 تا S_7 باشد (شکل ۲ و جدول ۳).

از آغازگر E و F برای شناسایی آلل S_8 و تایید نتایج جفت آغازگر دوم استفاده شد. در این آزمایش انتظار می‌رفت در صورت وجود آلل S_8 قطعه با طول ۵۶۵ جفت باز و در صورت وجود آلل‌های S_1، S_3 تا S_7 قطعه با طول ۴۹۶ جفت باز تولید شود. با توجه به این که در این آزمایش قطعه با طول ۵۶۵ جفت باز تولید نشد (شکل ۳) بنابراین آلل S_8 در ارقام مورد مطالعه وجود نداشت و نتایج این آزمایش با نتایج جفت آغازگر دوم مطابقت داشت که در آنجا هم قطعه با طول ۴۳۶ جفت باز که نشان‌دهنده آلل S_8 بود مشاهده نشد.

جدول ۳- پیش بینی آلل‌های ناسازگاری در ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از نتایج حاصل از آغازگر C و D

Table 3. The prediction of Asian pear incompatibility S alleles by using the results of C and D primers

ژنوتیپ Genotype	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5	S_6	S_7	ژنوتیپ ناسازگاری احتمالی Incompatibility genotype
KS_6	+	-	+	+	+	+	-	$S_?S_?$
KS_7	+	-	+	+	+	+	-	$S_?S_?$
KS_8	+	-	+	+	+	+	-	$S_?S_?$
KS_9	+	-	+	+	+	+	-	$S_?S_?$
KS_{10}	+	-	+	+	+	+	-	$S_?S_?$
KS_{11}	+	-	+	+	+	+	-	$S_?S_?$
KS_{12}	+	-	+	+	+	+	-	$S_?S_?$
KS_{13}	+	++	+	+	+	+	-	$S_2S_?$
KS_{14}	+	++	+	+	+	+	-	$S_2S_?$
Hybrid 1	+	++	+	+	+	+	-	$S_2S_?$
Hybrid 2	+	++	+	+	+	+	-	$S_2S_?$

+: احتمالاً این آلل وجود دارد؛ ++: این آلل وجود دارد؛ -: این آلل وجود ندارد؛ ؟: نوع آلل مشخص نشده است.

+: Probably this allele exists; ++: This allele exists; -: This allele dose not exist; ?: The allele was not determinated

Archive of SID

www.SID.ir

در حال حاضر تعداد ارقام خودناسازگار و دگرناسازگار گزارش شده در چندین گونه درخت میوه رو به افزایش است که به نظر می‌رسد به دلیل محدود بودن پایه ژنتیکی در ژنوتیپ‌های تجاری جدید استفاده تعداد محدودی لاین‌های مادری در برنامه اصلاح درختان میوه باشد (Kester *et al.*, 1994؛ Egea and Burgas, 1996). نتایج این آزمایش هم نشان داد که تشابه آلل‌های ناسازگاری در ژنوتیپ‌ها وجود دارد و بهتر است در تلاقی‌های جدید به این مسئله توجه شود. پیش‌بینی کاشت درختان گرده‌دهنده در باغ یکی از نیازهای اساسی برای به دست آوردن محصول اقتصادی در مورد بیشتر ارقام است، بنابراین درخت گرده‌دهنده باید با ارقام تجاری کاشته شده سازگار باشد و اجزاء آلل‌های ناسازگاری هر دو رقم باید حداقل در مورد یکی از آلل‌ها مختلف باشد (Sanzol and Herrero, 2002). با توجه به نتایج این آزمایش، ژنوتیپ‌ها KS_{13}، KS_{14}و هیبریدهای ۱ و ۲ به طور قطع دارای آلل مشترک S_2 هستند و در صورت دگر گرده‌افشانی این ژنوتیپ‌ها با همدیگر، ۵۰ درصد دانه‌های گرده جوانه نخواهد زد. ژنوتیپ‌ها KS_6، KS_7، KS_8، KS_9، KS_{10}، KS_{11} و KS_{12} دارای حداقل یک آلل متفاوت با ژنوتیپ‌ها KS_{13}، KS_{14}و هیبریدهای ۱ و ۲ هستند، بنابراین در صورت داشتن تطابق زمان گلدهی (Nyeki, 1996)، گرده‌زای خوبی برای همدیگر خواهند بود و حداقل ۵۰ درصد دانه‌های گرده از نظر ژنتیکی قابلیت جوانه‌زدن خواهند داشت.

روش PCR برای تعیین ناسازگاری سریع‌تر و راحت‌تر از سایر روش‌ها است و تحت تاثیر عوامل مرتبط با گرده‌افشانی از قبیل شرایط آب و هوایی و بکرزایی قرار نمی‌گیرد و علاوه بر آن به گیاه بالغ برای انجام مطالعات نیازی نیست (Tamura *et al.*, 2000؛ Kim *et al.*, 2002؛ Ishimizu *et al.*, 1999). سازگاری و عدم سازگاری بین ژنوتیپ‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و با تعیین دقیق آلل‌های ناسازگاری در برنامه‌های اصلاحی می‌توان از آن‌ها استفاده کرد و مشکلات موجود بر سر راه تشکیل میوه را برداشت و در صورت احداث باغ‌های جدید از خسارت احتمالی وارده جلوگیری کرد. لازم است مطالعات در این زمینه برای تعیین تطابق گلدهی ارقام و مشخص نمودن دوره گرده‌افشانی موثر ادامه پیدا کند.

سپاسگزاری

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش از طرح ملی به شماره ۴۲۲۵ (شورای پژوهش‌های علمی کشور) و همچنین طرح ملی به شماره ۸۴۰۰۶ (صندوق حمایت از پژوهشگران کشور) تحت عنوان مطالعه سازگاری چند رقم گلابی آسیایی با شرایط آب و هوایی ایران: فاز ۲ بررسی سازگاری در چند نقطه آب و هوایی کشور که در دانشگاه تربیت مدرس در حال

Archive of SID

www.SID.ir

اجراست تامین شده است که بدین‌وسیله تشکر می‌گردد. همچنین از مساعدت و حمایت گروه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس تشکر می‌شود.

References

Arzani, K. 2002. The position of pear breeding and culture in Iran: Introduction of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars. Acta Horticulturae 587: 167-173.

Burgos, L., Perez-Tornero, O., Ballester, J., and Olmos, E. 1998. Detection and inheritance of stylar ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. Sex Plant Reporduction. 11: 153–158.

Castillo, C., Nakanishi, T., Ishimizu, T., Takasaki, T., Norioka, S., and Saito, T. 2002. S-RNAse based PCR-RFLP system for S-genotype assignment in Japanese pear. Acta Horticulturae 587: 449-458

De Nettancourt, D. 1997. Incompatibility in angiosperms. Sex Plant Reproduction 10: 185–199

Doyle, J. J., and Doyle, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissues. Focus 12: 13-15.

Egea, J., and Burgos, L. 1996. Detecting cross-incompatibility of three North American apricot cultivars and establishing the first incompatibility group in apricot. Journal of American Society of Horticultural Science 121: 1002-1005.

Haring V. H., Gray, J. E., McClure, B. A., Anderson, M. A., and Clarke, A. E. 1990. Self-incompatibility: a self-recognition system in plants. Science 250: 937–971

Hiratsuka, S., and Zhang, S. L. 2002. Cultivar differences in the expression of self incompatibility in Japanese pears. Acta Horticulturae 587: 437-448.

Ishimizu T., Inoue, K., Shimonaka, M., Saito, T., Terai, O., and Norioka, S. 1999. PCR-based method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars. Theoretical and Applied Genetics 98: 961–967.

Janssens, G. A., Goderis, I. J., Broekaert, W. F., and Broothaerts, W. 1995. A molecular method for S-allele identification in apple based on allele-specific PCR. Theoretical and Applied Genetics 91: 691–698.

Kester, D. E., Gradziel, T. M., and Micke, W. C. 1994. Identifying pollen

Archive of SID

www.SID.ir

incompatibility groups in California almond cultivars. Journal of American Society of Horticultural Science 119: 106-109.

Kim, H. T., Kim, H. J., Nou, I. S., Hirata, Y., and Kang, K. K. 2002. Identification of self incompatibility alleles by S-RNase sequencing and PCR-RFLP analysis in Korean-bred pear (*Pyrus pyrifolia*) Strains. Acta Horticulturae 587: 467-476.

Koushesh-Saba, M., Arzani, K. and Jalali-Javaran, M. 2006. A study on flowering, pollination, self and cross incompatibility of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars. Iranian Journal of Agricultural Science 37: 755-763 (in Farsi).

Nee, C. C., Tsai, C. H., and Anstine, D. D. 2002. Asian pear cultivars-Future trend and current research in the industry. Acta Horticulturae 587: 61-69

Nyeki, J. 1996. Fertilization conditions. pp. 185-265. In: Nyeki, J., and Soltesz, M. (eds.) Floral Biology of Temprate Zone Fruits Trees and Small Fruit. Akademiai Kiado Publications.

Sanzol, J. and Herrero, M. 2002. Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). Euphytica 128: 325–331.

Sassa, H., Mase, W., Hirano, H. and Ikehashi, H. 1994. Identification of self incompatibility related glycoproteins in styles of apple (*Malus domstica*). Theoretical and Applied Genetics 89: 201-205.

Tamura, M., Ushijima, K., Sassa, H., Hirano, H., Tao, R., Gradziel, T. M., and Dandekar, A. M. 2000. Identification of self-incompatibility genotypes of almond by allele specific PCR analysis. Theoretical and Applied Genetics 101: 344–349.

Tehrani, G., and Lay, J. W. 1988. Verification of pedigrees of different sweet cherry cultivars introduced from Vineland through pollen compatibility studies. HortScience 23: 783-788.

Tomimoto, Y., Nakazaki, T., Ikehashi, H., Ueno, H., and Hayashi, R. 1996. Analysis of self-incompatibility-related ribonucleases (SRNases) in two species of pears (*Pyrus communis*) and *Pyrus ussuriensis*. Scientia Horticulturae 66: 159–167.

Wiersma, P. A., Wu, Z., Zhou, L., Hampson, C., and Kappel, F. 2001.

Archive of SID

www.SID.ir

Identification of new self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and clarification of incompatibility groups by PCR and sequencing analysis. Theoretical and Applied Genetics 102: 700–708.

Zuccherelli, S., Broothaerts, W., Tassinari, P., Tartarini, S., Dondini, L., Bester, A., and Sansavini, S. 2002. S-allele characterization in self-incompatible pear (*Pyrus communis*): Biochemical, molecular and field analyses. Acta Horticulturae 596: 147-152.

Archive of SID

www.SID.ir