Archive of SID

تعیین گرده‌زای مناسب برای گیلاس صورتی همدان با استفاده از تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش پی‌سی‌آر

احمد ارشادی[۱]، فرشاد دشتی[۱] و اسفندیار حسنی مقدم[۲]

چکیدهح

خود ناسازگاری و دگرناسازگاری در گیلاس به یک مکان ژنی چند آللی (*S*-locus) نسبت داده می‌شود که به صورت گامتوفیتیک کنترل می‌گردد. جهت تشکیل میوه اقتصادی در باغات تجاری گیلاس باید از گرده‌زای مناسب و سازگار استفاده نمود. در این پژوهش ارقام گرده‌زای مناسب برای گیلاس صورتی همدان از طریق شناسایی آلل‌های ناسازگاری به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و با توجه به روشن بودن هم‌پوشانی گل‌دهی بین هفت رقم گیلاس مجتهدی، حاج یوسفی، شعاع السلطنه، قرمز رضاییه، سیاه قزوین، سیاه مشهد و شبستر تعیین شد. با استفاده از ۱۳جفت آغازگر اختصاصی دو گروه دگرناسازگار تشخیص داده شد. ارقام صورتی‌همدان و سیاه قزوین باندهای مربوط به آلل‌های ناسازگاری S_4 و S_{14} را نشان داده و با هم کاملاً دگرناسازگار هستند. در ارقام مجتهدی، حاج یوسفی، شعاع السلطنه، و قرمز رضاییه باندهای مرتبط با آلل‌های S_3 و S_4 تکثیر شده و با رقم صورتی همدان نیمه سازگار می‌باشند. در ارقام سیاه مشهد و شبستر فقط باند مربوط به آلل S_3 شناسایی شده و این دو رقم با رقم صورتی همدان کاملاً سازگار هستند. بررسی خصوصات گل‌دهی ارقام طی یک دوره ده ساله نشان می‌دهد که کلیه ارقام به جز رقم شعاع السلطنه هم‌پوشانی گل‌دهی کافی با گیلاس صورتی همدان به میزان ۷۵ درصد یا بیشتر دارند. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش و خصوصیات گل‌دهی آن‌ها ارقام شبستر، سیاه مشهد، مجتهدی و قرمز رضائیه به ترتیب به عنوان گرده‌زاهای مناسب و سازگار و رقم حاج یوسفی به عنوان گرده‌زای درجه دو برای گیلاس صورتی همدان پیشنهاد می‌شوند. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یک روش سریع و موثر برای تعیین گروه‌های دگرناسازگار و انتخاب گرده‌زای مناسب برای ارقام می‌باشد.

کلمات کلیدی: گیلاس، خودناسازگاری، دگرناسازگاری، گرده‌زا، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

---

۱ و ۲. به ترتیب استادیاران و دانشجوی پیشین کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

تولید جهانی گیلاس و آلبالو بالغ بر ۱۸۰۰۰۰۰ تن می‌باشد و ایران با تولید حدود ۲۴۴۰۰۰ تن بعد از ترکیه و آمریکا مقام سوم جهان را دارد (بی‌نام، ۲۰۰۵). خودناسازگاری در گیلاس از نوع گامتوفیتیک[1] بوده که توسط یک مکان‌ژنی[2] با چندین فرم آللی کنترل می‌شود (بوسکویچ و همکاران، ۱۹۹۷). خودناسازگاری گامتوفیتیک به‌طور ژنتیکی به خامه یک گل اجازه می‌دهد بین دانه‌ی گرده‌ی خودی و دانه‌ی گرده‌ی غیرخودی با آلل متفاوت تمایز قائل شود. این سیستم خود تشخیص، باعث جلوگیری از رشد لوله گرده در داخل خامه می‌شود. خودناسازگاری یک مانع تولید مثلی پیش از تشکیل سلول تخم می‌باشد که از رهاسازی سلول‌های اسپرم در داخل تخمدان و انجام عمل لقاح مضاعف جلوگیری می‌کند (کائو و تسوکاموتو، ۲۰۰۴). محصول مکان ژنی خودناسازگاری در خانواده گلسرخیان یک سری گلیکوپروتئین‌های[3] با فعالیت ریبونوکلئازی (اس‌اران‌آز[4]) است (استون و گورینگ، ۲۰۰۱). این ریبونوکلئازها در مادگی گل‌های بالغ ساخته شده و نقش آن‌ها بازدارندگی اختصاصی از رشد لوله‌ی گرده‌ی حاوی آلل مشابه با یکی از آلل‌های مادگی می‌باشد (بوسکویچ و توبوت، ۲۰۰۱). ریبونوکلئازهای ناسازگاری از مادگی به داخل لوله‌ی گرده‌ی ناسازگار رفته و باعث تخریب RNA ریبوزومی و در نهایت مرگ سلول لوله‌ی گرده می‌شود (توماس و کیرچ، ۱۹۹۲).

خودناسازگاری اصلی‌ترین عاملی است که سبب می‌شود بخشی از کل درختان میوه در سطح باغ به درختان گرده‌زا[5] اختصاص یابد تا به عنوان دهنده‌ی گرده به رقم اصلی عمل کنند. گرده‌زاها باید به دقت انتخاب شوند تا تشکیل میوه کافی را در رقم اصلی باغ تضمین کنند (جانسنز و همکاران، ۱۹۹۵). گاه در حضور یک رقم گرده‌زا نیز میزان تشکیل میوه پایین است که این می‌تواند به دلیل دگرناسازگاری و یا عدم هم‌زمان گل‌دهی ارقام گرده‌زا و اصلی باشد.

اکثر ارقام گیلاس خودناسازگارند و بدون استفاده از درختان گرده‌زای مناسب و سازگار محصول اقتصادی تولید نمی‌کنند. هم‌چنین بعضی از ارقام گیلاس در گروه‌های دگرناسازگاری[6] قرار می‌گیرند و نمی‌توانند همدیگر را تلقیح کنند. برای مثال ارقام معروف ناپلئون[7]، بینگ[8] و لامبرت[9] با ژنوتیپ ناسازگاری S_3S_4 در یک گروه دگرناسازگاری قرار می‌گیرند و قادر به بارور کردن همدیگر نیستند (ورما و جیندال، ۱۹۹۶).

ارزانی و همکاران (۱۳۷۱) با استفاده از مطالعات گرده افشانی کنترل شده سازگاری ارقام شبستر، صورتی لواسان، ناپلئون، سیلژی بلارک را در تلقیح رقم گیلاس سیاه مشهد مورد بررسی قرار دادند و ارقام صورتی لواسان و شبستر را به عنوان بهترین ارقام گرده‌زا برای گیلاس سیاه مشهد معرفی کردند. سیفی و ارزانی (۱۳۷۷) سازگاری ارقام بینگ، لامبرت، زرد دانشکده، سفید ارومیه، پروتیوا را با رقم گیلاس سیاه مشهد توسط گرده‌افشانی کنترل شده مطالعه نمودند. در این بررسی ارقام بینگ و زرد دانشکده به عنوان بهترین ارقام گرده‌زا برای گیلاس سیاه مشهد تعیین شدند ولی رقم لامبرت با گیلاس سیاه مشهد ناسازگار بود. انتخاب گرده‌زای مناسب به روش سنتی با توجه به تغییرات آب و هوایی منطقه باید طی چندین سال انجام شود که این امر مستلزم صرف هزینه و زمان زیاد بوده و هم‌چنین از دقت بالایی برخوردار نمی‌باشد و گاه نتایج به دست آمده توسط این روش خطا برانگیز بوده و قابل اطمینان نمی‌باشد. هم‌چنین تمایز دقیق بین تلاقی‌های سازگار و نیمه سازگار با روش‌های سنتی قابل تشخیص نیست (ارشادی و همکاران،۱۳۸۰؛ ارشادی، ۱۳۸۱). جانسنز و همکاران (۱۹۹۵) گزارش نمودند تکثیر آلل‌های ناسازگاری به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[10] و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی یک روش جایگزین مناسب برای شناسایی آلل‌های خودناسازگاری و تعیین روابط ناسازگاری در درختان میوه می‌باشد. از روش

1. Gametophytic Self-Incompatibility
2. Locus
3. Glycoprotein's
4. S-RNase
5. Pollenizer
6. Cross Incompatiblity Groups
7. Napoleon
8. Bing
9. Lambert
10. Polymerase Chain Reaction

www.SID.ir

Archive of SID

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در گیلاس استفاده شده است (حسنی-مقدم، ۱۳۸۵؛ تائو و همکاران، ۱۹۹۹؛ ویرسما و همکاران، ۲۰۰۱؛ سونولد و همکاران، ۲۰۰۳). روش استفاده از نشانگرهای مولکولی برای تعیین گرده‌زای مناسب تحت تاثیر محیط قرار نگرفته و نتایج آن قابل تعمیم برای سال‌های مختلف می‌باشد. روش‌های مولکولی علاوه بر دقت و سرعت خیلی زیاد هزینهٔ کمتری نسبت به روش‌های سنتی داشته و حتی بر روی نهال‌های جوان گیلاس قابل انجام می‌باشد (دکویپر و همکاران، ۲۰۰۵). در این بررسی ارقام گرده‌زای مناسب برای گرده‌افشانی و تلقیح گیلاس صورتی همدان با استفاده از شناسایی آلل‌های ناسازگاری به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و توجه به هم‌پوشانی گل‌دهی ارقام شناسایی و معرفی شدند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی

ارقام مورد آزمایش شامل ۸ رقم گیلاس ایرانی (مجتهدی، حاج یوسفی، شعاع السلطنه، قرمز رضائیه، سیاه قزوین، سیاه مشهد، شبستر و صورتی همدان) موجود در کلکسیون درختان میوه کمال‌آباد وابسته به موسسه اصلاح و تهیه نهال بذر بود. در زمستان سال ۱۳۸۴ تعداد ۱۰ عدد جوانه جانبی از شاخه‌های ارقام گیلاس جمع‌آوری شده و بلافاصله در ازت مایع منجمد گردید و سپس به فریزر با دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

استخراج DNA

استخراج DNA با تغییراتی نسبت به روش دویل و دویل، ۱۹۸۷ انجام گرفت. بدین منظور از بافر استخراج حاوی ۲٪ هگزا دستیل تری متیل آمونیوم بروماید (CTAB)، ۱/۴ مولار کلرید سدیم، ۲۰ میلی‌مولار (EDTA)، ۱۰۰ میلی‌مولار تریس ۸ :pH، ۲٪ پلی وینیل پیرولیدون (PVP) و ۱٪ از ۲-مرکاپتواتانول استفاده گردید.

تجزیه مولکولی

واکنش پی‌سی‌آر در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل ۲۰ میلی مولار Tric-HCl pH 8.3، ۵۰ میلی مولار KCl، ۲/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۰/۲میلی‌مولار dNTPs، ۰/۱ میکرومولار از هر یک از ۱۳جفت آغازگر اختصاصی طراحی شده توسط سونوولد و همکاران (۲۰۰۱ و ۲۰۰۳) برای تکثیر آلل‌های S_{10}, S_9, S_7, S_6, S_5, S_4, S_3, S_2, S_1, S_{16}, S_{14}, S_{13}, S_{12} تهیه شده از شرکت T.I.B.Mol. Biol. آلمان (جدول۱)، ۰/۶۲۵ واحد *Taq* پلیمراز (سیناژن) و ۲۵ نانوگرم DNA الگو بود.

پیش از انجام واکنش‌های پی‌سی‌آر، DNA ژنومی به مدت ۲ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد واسرشته[1] شد و پس از تهیه مخلوط اصلی واکنش حدود ۲۰ میکرولیتر روغن معدنی به نمونه‌ها اضافه گردید. تکثیر در یک دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) طی ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر[2] در دمای مناسب اتصال برای هر آغازگر (جدول۱) به مدت ۳۰ ثانیه، توسعه[3] با استفاده از *Taq* پلیمراز در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و توسعه نهایی در دمایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام گردید (سونوولد و همکاران، ۲۰۰۳).

الکترفورز بر روی ژل آگارز ۱/۴ درصد در بافر TAE یک برابر غلظت به مدت ۲ تا ۴ ساعت و در ولتاژ ۶۰ تا۷۰ ولت انجام شد. رنگ آمیزی ژل‌ها توسط محلول اتیدیوم بروماید به غلظت ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر و به مدت ۳۰ دقیقه انجام گردید. پس از رنگ آمیزی، باندها زیر نور ماوراء بنفش مشاهده و عکس‌برداری از آن‌ها انجام شد.

نتایج و بحث

با استفاده از جفت‌آغازگرهای اختصاصی مربوط به ۱۳ آلل مورد بررسی فقط سه آلل S_3 , S_4 و S_{14} در

1. Denaturation
2. Annealing
3. Extension

www.SID.ir

Archive of SID

ارقام گیلاس مورد آزمایش، تکثیر گردیدند و ۱۰ آلل دیگر در هیچ کدام از این ارقام تکثیر نشدند. آلل خودناسازگاری S_3 در ۶ رقم مجتهدی، حاج یوسفی، شعاع السلطنه، قرمز رضائیه، سیاه مشهد و شبستر تکثیر شد (شکل۱). آلل خودناسازگاری S_4 نیز در ۶ رقم مجتهدی، حاج یوسفی، شعاع السلطنه، قرمز رضائیه، سیاه قزوین و صورتی همدان تکثیر و شناسایی شد (شکل۲). هم‌چنین باند مربوط به آلل خودناسازگاری S_{14} در دو رقم صورتی همدان و سیاه قزوین مشاهده شد (شکل ۳).

حسنی‌مقدم (۱۳۸۵) طی بررسی آلل‌های خودناسازگاری در ۲۵ رقم گیلاس تجاری ایرانی اظهار داشت، که با توجه به فراوانی بالای آلل‌های S_3 و S_4 به نظر می‌رسد این دو آلل در والدین گروهی از ارقام گیلاس ایرانی بیشتر وجود داشته و گیلاس‌های تجارتی ایرانی دارای اساس ژنتیکی نسبتاً باریکی می‌باشند. بوسکویچ و توبوت (۲۰۰۱) اعلام کردند آلل‌های خودناسازگاری S_3 ,S_1 ,S_2 و S_4 به ترتیب دارای بیشترین فراوانی در بین آلل های خودناسازگاری شناخته شده‌ی گیلاس هستند.

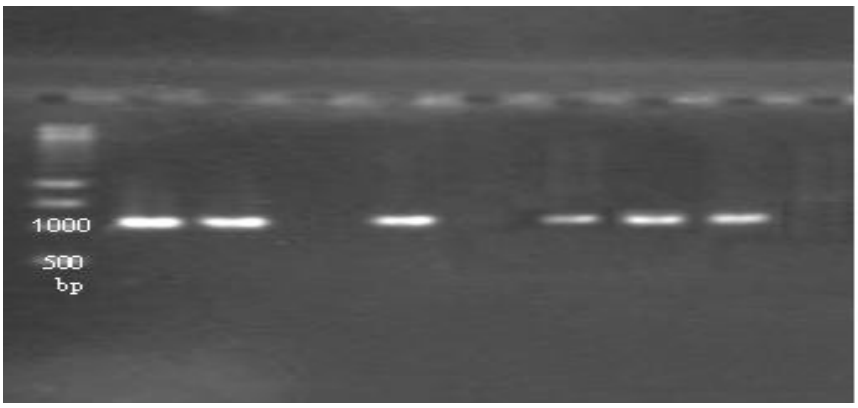
ژنوتیپ خودناسازگاری هشت رقم گیلاس ایرانی با استفاده از تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش پی‌سی‌آر در جدول (۲) آورده شده است. بر اساس ژنوتیپ خودناسازگاری تعیین شده دو گروه دگرناسازگار S_3S_4 و S_4S_{14} تشخیص داده شد. ژنوتیپ خودناسازگاری ارقام صورتی‌همدان و سیاه قزوین S_4S_{14} تعیین شد. این ژنوتیپ اولین بار توسط حسنی‌مقدم (۱۳۸۵) در ارقام گیلاس ایرانی شناسایی شده و تحت عنوان گروه دگرناسازگاری ۲۵ معرفی شد. رقم گیلاس سیاه قزوین به علت قرار گرفتن گروه دگرناسازگاری مشابه با گیلاس صورتی همدان، توانایی باروری و تلقیح این رقم را ندارد و نمی‌توان از آن رقم به عنوان گرده‌دهنده مناسب و سازگار برای گیلاس صورتی‌همدان استفاده کرد.

جدول۱: توالی نوکلوتیدی جفت آغازگرهای اختصاصی، دمای اتصال و اندازه باند ایجاد شده

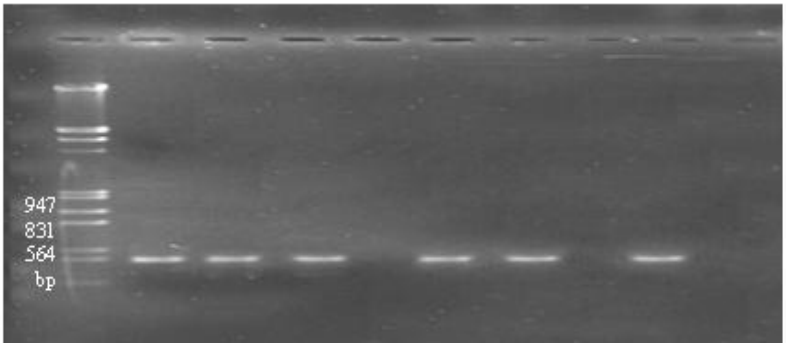
آغازگر	توالی $5' \rightarrow 3'$	دمای اتصال (°C)	اندازه محصول پی‌سی‌آر (bp)
S_1	F (GTA ATT GCA ACG GGT CAA AAT ATG AG) R (ACA ACT CAG TAT TAG TTG CTG GAT CA	۶۱-۶۵	۸۲۰
S_2	F (CC TGC TTA CTT TGT CAC GCA) R (AAG TGC AAT CGT TCA TTT G)	۵۷-۶۱	۶۴۰
S_3	F (GGG TCG CGA TTT AAG AAA GAG C) R (AAC AAT CGT ACT TTG TGA TGA CTT CG)	۶۳-۶۷	۹۶۰
S_4	F (CAC TGG GTC GCT GTT TAA CTT TAG G) R (TTG CAT TTG ATT AAG TGA GGC TTC A)	۶۰-۶۳	۸۲۰
S_5	F (ACA TGG TAC ATG TTC CCA ACG GAT C) R (CTG CTG TTC GAT GAT TAC AGT CAA TAT GTA C)	۵۰-۵۳	۳۰۰
S_6	F (ACT GGA CCG CAA TTT AAG CG) R (AGT TGC TGC TTT AAT GGG TGC A)	۶۲-۶۶	۴۶۰
S_7	F (AGC TTC TTT AGC GAC GTT AGA TG) R (TGC ATT TGG TTT AGT TTC TCT ACA)	۵۵-۶۰	۵۸۴
S_9	F (TT TGT TAC GTT ATG AGC AGC AG) R (ATG AAA CAA TAC ATA CCA CTT TGC TA)	۵۸-۶۶	۴۹۵
S_{10}	F (GTT TGA CGA TGC TCA GTA TCA C) R (GT ACT TCC ATC TTT GTC TTG CAC)	۵۸-۶۶	۵۰۵
S_{12}	F (ATT CTG ATG CTG GTC CTA TAG) R (AAC TCA GGC TTA TTAGGG TG)	۵۹-۶۳	۵۶۲
S_{13}	F (CA ATG GGT CGC ATT TTG ACG A) R (GGA GGA GGT GGA TTC GAA CAC TTG)	۶۲-۶۶	۳۰۶
S_{14}	F (G CAG AAT TTG GTA TGT GTT GGA) R (GG ATC GCT GGA AGT ATT GCA TTA T)	۶۱-۶۵	۴۶۸
S_{16}	F (T CAT CAA TTG CGT GAT TAG CAG R (TGT ACC ATG TTT GTT CCA TTC CAT)	۵۷-۶۱	۴۲۹

www.SID.ir

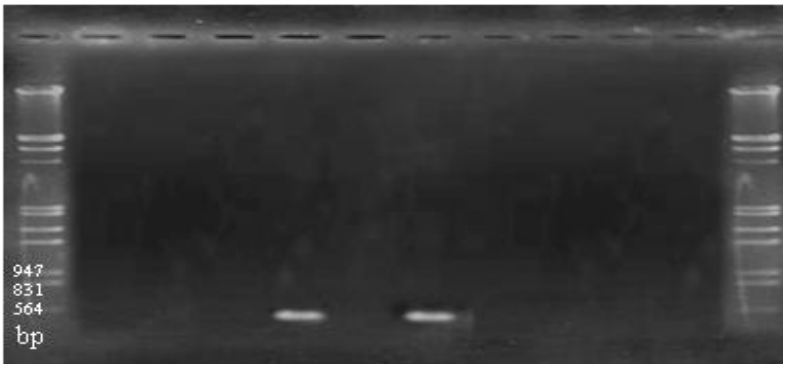
Archive of SID



شکل ۱: تکثیر اختصاصی آلل خودناسازگاری S_3 بر روی ژل آگارز نمونه‌ها به ترتیب از چب به راست ۱-نشانگر DNA ۲- مجتهدی ۳- حاج یوسفی ۴- سیاه قزوین ۵- سیاه مشهد ۶- صورتی همدان ۷- شعاع السلطنه ۸- شبستر ۹- قرمز رضائیه ۱۰-کنترل منفی



شکل ۲- تکثیر اختصاصی آلل خودناسازگاری S_4 بر روی ژل آگارز نمونه‌ها به ترتیب از چب به راست ۱-نشانگرDNA ۲-مجتهدی ۳- حاج یوسفی ۴- سیاه قزوین ۵- سیاه مشهد ۶- صورتی همدان ۷- قرمز رضائیه ۸- شبستر ۹- شعاع السلطنه ۱۰-کنترل منفی



شکل ۳: تکثیر اختصاصی آلل خودناسازگاری S_{14} بر روی ژل آگارز نمونه‌ها به ترتیب از چب به راست ۱-نشانگرDNA ۲-مجتهدی ۳- حاج یوسفی ۴- سیاه قزوین ۵- سیاه مشهد ۶- صورتی همدان ۷- قرمز رضائیه ۸- شبستر ۹- شعاع السلطنه ۱۰-کنترل منفی

چهار رقم مجتهدی، حاج‌یوسفی، شعاع السلطنه و قرمز رضائیه دارای آلل‌های ناسازگاری مشابه S3 و S4 بوده و در یک گروه دگر ناسازگاری قرار گرفتند. کلیه ارقام یک گروه دگرناسازگاری با هم ناسازگار بوده و نمی‌توان از آن‌ها به عنوان گرده‌زای مناسب برای یکدیگر استفاده کرد (ورما و جیندال، ۱۹۹۶). این ارقام به دلیل داشتن یک آلل مشترک (S_4)، با رقم صورتی همدان نیمه سازگار هستند. در ارقام شبستر و سیاه مشهد فقط آلل

www.SID.ir

Archive of SID

خودناسازگاری S_3 تکثیر شده و آلل خودناسازگاری دوم این ارقام با استفاده از ۱۳ آغازگر اختصاصی موجود تکثیر نگردید که می‌تواند به دلیل وجود آلل‌های متفاوت از ۱۳ آلل خودناسازگاری مورد بررسی باشد. حسنی‌مقدم (۱۳۸۵) گزارش داد در بعضی از ارقام گیلاس ایرانی احتمالاً آلل‌های جدید خودناسازگاری وجود دارد. از آن-جایی‌که آلل خودناسازگاری دوم در ارقام گیلاس سیاه مشهد و شبستر قطعاً متفاوت از آلل‌های ناسازگاری رقم گیلاس صورتی همدان (S_4S_{14}) است، این ارقام با رقم صورتی همدان کاملاً سازگار می‌باشند.

برخی از پژوهشگران مانند چرچ و همکاران (۱۹۸۳) تاریخ شروع گل‌دهی را به عنوان یکی از مهم-ترین شاخص‌ها برای انتخاب درختان گرده‌زا مد نظر قرار داده‌اند. رقم‌های متعلق به یک گروه گل‌دهی شانس خوبی جهت گرده‌افشانی همدیگر دارا می‌باشند. هم-چنین ارقام در گروهای گل‌دهی مجاور می‌توانند جهت احداث باغ‌های با ارقام متفاوت مد نظر قرار گیرند (سولتز، ۱۹۹۶). گوهرخای (۱۳۷۱) خصوصیات گل‌دهی اکثر ارقام تجاری گیلاس ایرانی را طی دو دوره پنج ساله بررسی و گزارش نمود. بر اساس نتایج به‌دست آمده توسط این پژوهشگر خصوصیات گل‌دهی هشت رقم گیلاس مورد استفاده در این پژوهش استخراج و در جدول شماره ۳ آورده شده است. هم‌پوشانی گل‌دهی ارقام سیاه مشهد، مجتهدی، شبستر و قرمز رضائیه با رقم صورتی همدان ۱۰۰-۷۹ درصد می‌باشد. این ارقام دارای هم‌پوشانی گل‌دهی کافی با رقم اصلی هستند. هم‌پوشانی گل‌دهی ارقام حاج یوسفی و سیاه قزوین با رقم صورتی همدان ۷۵ درصد می‌باشد و لذا از این نظر در درجه دوم قرار می‌گیرند. رقم شعاع السلطنه دارای ۵۹ درصد هم‌پوشانی گل‌دهی با رقم صورتی همدان می-باشد این رقم چهار روز پس از صورتی همدان وارد گل-دهی می‌شود و به همین دلیل به عنوان گرده‌زا برای این رقم توصیه نمی‌گردد. ورما و جیندال (۱۹۹۶) گزارش دادند ارقامی که گل‌دهی آن‌ها قبل و یا همزمان با رقم اصلی شروع می‌شود در صورت سازگاری ژنتیکی دانه-گرده موفقیت بیشتری در گرده‌افشانی و تلقیح رقم اصلی خواهند داشت (۲۳). میترا (۱۹۹۲) گزارش داد رقم گرده‌زا باید تولید گل و گرده فراوان نموده و هم‌چنین باید قبل و یا همزمان با رقم اصلی باغ به گل رفته و دوره گل‌دهی آن هم‌پوشانی کافی با رقم اصلی باغ داشته باشد (میترا، ۱۹۹۲). در باغات تجاری گیلاس با توجه به شدت خودناسازگاری و ریز بودن میوه‌ها جهت افزایش درصد تشکیل میوه به درختان گرده‌زای بیشتری در مقایسه با درختان سیب و گلابی نیاز می‌باشد. بهترین حالت نسبت درختان گرده‌زا به رقم اصلی در باغات گیلاس ۱ به ۱ یا ۱ به ۲ در نظر گرفته شده و در حد امکان رقم گرده‌زا باید از ارقام تجاری و مطلوب باشد (ورما و جیندال، ۱۹۹۶).

جدول۲: آلل‌های ناسازگاری تکثیر شده در ارقام گیلاس با استفاده از تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

رقم	آلل‌های تکثیر شده
مجتهدی	S_3S_4
حاج‌یوسفی	S_3S_4
شعاع السلطنه	S_3S_4
قرمز رضائیه	S_3S_4
صورتی همدان	S_4S_{14}
سیاه قزوین	S_4S_{14}
سیاه مشهد	$S_3\ S_?$[1]
شبستر	$S_3\ S_?$[1]

۱: آلل ناسازگاری تکثیر نشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳: تاریخ شروع، پایان و طول دوره گل‌دهی در ارقام گیلاس مورد بررسی[۱]

رقم	شروع گل‌دهی (تاریخ)	پایان گل‌دهی (تاریخ)	طول دوره گل‌دهی (روز)
مجتهدی	۲۳/۱	۹/۲	۱۷
حاج یوسفی	۲۲/۱	۸/۲	۱۷
شعاع السلطنه	۲۹/۱	۱۵/۲	۱۷
قرمز رضائیه	۲۳/۱	۸/۲	۱۶
صورتی‌همدان	۲۵/۱	۱۰/۲	۱۶
سیاه قزوین	۲۳/۱	۷/۲	۱۵
سیاه مشهد	۲۵/۱	۱۰/۲	۱۶
شبستر	۲۳/۱	۸/۲	۱۵

۱: منبع: گوهرخای (۱۳۷۱)

بنابراین در باغات تجاری گیلاس هرچه قدر میزان عملکرد درخت گرده‌زا بالاتر باشد منجر به افزایش عملکرد و سودآوری بیشتری خواهد شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده توسط تکثیر اختصاصی آلل‌های خودناسازگاری، درصد هم‌پوشانی گل‌دهی به ترتیب ارقام شبستر، سیاه مشهد، مجتهدی و قرمز رضائیه به عنوان گرده‌زای مناسب و سازگار برای رقم گیلاس صورتی همدان معرفی و اعلام می‌شوند. هم‌چنین رقم حاج یوسفی علی‌رغم اینکه یک رقم با عملکرد بالا به شمار می‌رود، به علت پایین بودن درصد هم‌پوشانی گل‌دهی با رقم صورتی همدان در مقایسه با سایر ارقام به عنوان گرده‌زای درجه دوم پیشنهاد می‌شود. علی‌رغم متفاوت بودن ژنوتیپ ناسازگاری رقم شعاع السلطنه با رقم گیلاس صورتی همدان به علت اینکه زمان گل‌دهی آن بعد از رقم صورتی همدان می‌باشد و درصد هم‌پوشانی آن کم‌تر از ۶۰ درصد می‌باشد به عنوان رقم گرده‌زای مناسب توصیه نمی‌شود. ژنوتیپ ناسازگاری رقم سیاه قزوین کاملاً مشابه با ژنوتیپ ناسازگاری صورتی همدان می‌باشد. این دو رقم با هم دگرناسازگار هستند و برای گرده‌افشانی و تشکیل میوه‌ی تجاری نمی‌توان آن‌ها را با هم کشت نمود. سونوولد (۲۰۰۳) اعلام کردند در باغات تجاری گیلاس جهت اطمینان از تشکیل میوه کافی باید ارقامی که دارای ژنوتیپ خودناسازگاری متفاوت و هم-پوشانی گل‌دهی کافی هستند با هم کاشته شوند. جانسنز و همکاران (۱۹۹۵) گزارش دادند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یک روش جای‌گزین مناسب برای تعیین روابط ناسازگاری و انتخاب ارقام گرده‌زای مناسب در درختان میوه می‌باشد.

برای تایید نتایج حاصل از این آزمایش انجام تلاقی‌های کنترل شده توصیه می‌گردد. باید توجه داشت که تعیین آلل‌های ناسازگاری به روش مولکولی پژوهشگران را به انجام تلاقی‌های هدف‌مند راهنمایی کرده و تعداد تلاقی‌های کنترل شده لازم را به حداقل کاهش می‌دهد و به این طریق هزینه آزمایش‌های مزرعه‌ای تا حد ممکن کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

هزینه این پژوهش از محل اعتبار طرح‌های پژوهشی مصوب در معاونت پژوهشی (شماره ۱۸۱۰-۳۲) دانشگاه بوعلی سینا تامین شده است که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

ارزانی، ک.، خلیقی، ا.، مصطفوی، م.، منعیی، ع. و وجدانی، پ. ۱۳۷۱. انتخاب بهتریت تلقیح کننده برای گیلاس سیاه مشهد. مجله علوم کشاورزی ایران، ج ۲۳، ش ۳، ص ۷۵-۶۵.

ارشادی، ا.، طلایی، ع. و وزوایی، ع. ۱۳۸۰. بررسی آلل های خودناسازگار در ۳۲ رقم سیب ایرانی (*Malus × domestica* B) با استفاده از ایزوآنزیم‌های ریبونوکلئازهای خامه گل. مجله نهال و بذر، ج ۱۷، ش۴، ص۴۷۲-۴۶۱.

ارشادی، ا. ۱۳۸۱. برسی گرده‌افشانی و تشکیل میوه و ارزیابی ارقام سیب ایرانی با استفاده از نشانگرهای مولکولی. رساله دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

حسنی‌مقدم، ا. ۱۳۸۵. شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در ارقام گیلاس ایرانی با استفاده از تکثیر اختصاصی آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

سیفی، ا. و ارزانی،ک. ۱۳۷۷. مطالعه سازگاری و ناسازگاری برخی از ارقام گیلاس در تلقیح و تشکیل میوه گیلاس سیاه مشهد. مجله نهال بذر، ج ۱۴، ش ۲، ص ۳۸- ۳۰

گوهرخای، ش. ۱۳۷۱. ارزیابی صفات کمی و کیفی میوه و ویژگیهای رویشی ارقام گیلاس و تعیین رابطه همبستگی بین برخی از این صفات. مجله نهال و بذر، ج ۳، ش ۸، ص ۴۴-۳۹.

Anonymous, 2005. Agriculture production book. FAO, pp 734

Boskovic, R., Tobutt, K. R. and Nicole, F. J. 1997. Inheritance of isoenzyme and their linkage relationships in two inter specific cherry progenies. Euphytica 99:129-143

Boskovic, R. and Tobutt, K. R. 2001. Analyzing stylar ribonuclases to genotype cherry cultivar assigned to incompatibility groups. Theor. Appl. Genet. 103:475-485

Church, R. M., Williams, R. R. and Andrews, L. 1983. Comparison the compatibility and metaxenia effects of several Malus cultivars used as pollinators forcoxes orange pippin apple. J. Hort. Sci. 58 (3): 34–35

de Cuyper, B., Sonneveld, T., and Tobutt, K. R. 2005. Determining self-incompatibility genotypes in Belgian wild cherries. Mol. Ecol. 14:945-949

Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1987. Rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phiochem. Bull. 19:11-15

Jackson, J. F. 1996. Gene flow in pollen in commercial almond orchards. Sex Plant Reprod. 9:367-369

Jansens, G. A., Godris, I. J. and Broekaert, W. F. 1995. A molecular method for S-alleles identification in apple based on alleles specific PCR. Theor. Appl. Genet. 91:691-698

Kao, T. H. and Tsukamoto, T. 2004. The molecular and genetic bases of S-RNase based self-incompatibility. Plant Cell 16:S72-S83

Mitra, S. M. K. 1992. Apple, PP 1-122. In: Mitra, S.M.K. and Khathore, P.S. (Ed) Temperate fruit. India Horticulture and Allied Pub. PP 767

Soltesz, M. 1996. Flowering, pp 80–131 in: Nyeki, J. and Soltesz, M. (Ed): floral biology of temperate zone fruit trees and small fruit. Academia Kiado Pub. PP 377

Sonneveld, T., Robbins, T. P., Boskovic, R. and Tobutt, K. R. 2001. Cloning of six cherry self-incompatibility alleles and development of allele specific PCR detection. Thoer. Appl. Genet. 102:1046-1055

Sonneveld, T., Tobutt, K. R. and Robbins, T. P. 2003. Alleles-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) allele S_1-S_{16} using consensus and alleles-specific primers. Theor. Appl. Genet. 107:1059-1070

Stone, S. L. and Goring, D. R. 2001. The molecular biology of self-incompatibility system in flowering plant. Plant Cell Tiss. Org. Cul. 67:93-114

www.SID.ir

Archive of SID

Tao, R., Yamane, H., Sugiur, A., Murayama, H., Sassa, H. and Mori, H. 1999. Molecular typing of S-alleles through identification, characterization and c-DNA cloning for S-RNase in sweet cherry. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 124:224-233

Thomas, R. D. and Kirch, H. H. 1992. The S-locus of flowering plant when self rejection is of self-interest Trend. Genet. 8(11):381-387

Verma, I. F. and Jindal, K. K. 1996. Fruit crop pollination. kalian Pub.PP405

Wiersma, P. A., Wu, Z., Zhou, L., Hampson, C. and Kappel, F. 2001. Identification of new self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and clarification of incompatibility groups by PCR and sequencing analysis. Theor. Appl. Genet. 102:700-708

www.SID.ir

Archive of SID

Determination of Suitable Pollinizers for Sweet Cherry (*Prunus avium*) Cultivar 'Sorati-e-Hamedan' Using Allele-Specific PCR

Ershadi[1], A., Dashti[1], F and Hasani Moghadam[2], E

Abstract

Self-incompatibility in sweet cherry is attributed to a multi-allelic locus, *S*-locus, controlled gametophytically. In commercial sweet cherry orchards, compatible pollinizers must be planted to set an economic crop. In this study, suitable pollinizers for cultivar 'Sorati-e-Hamedan' were determined based on *S*-allele genotyping, with allele-specific primers, as well as flowering date coincidence of seven sweet cherry cultivars 'Mojtahedi', 'Hajyosoufi', 'Shoa-al- Saltaneh', 'Ghermez-e- Rezayieh', 'Siah-e- Qazvin, 'Siah-e- Mashhad' and 'Shabestar'. Using 13 allele-specific primer pair's, two cross-incompatiblity groups (CIGs) S_3S_4 and S_4S_{14} were identified. 'Sorati-e-Hamaden' and 'Siah-e-Qazvin' cultivars had S_4S_{14} genotype, and were completely cross incompatible. S-genotype of 'Mojtahedi', 'Haj Yosoufi', 'Shoa-al-Saltaneh' and 'Ghermez-e-Rezayieh' cultivars were S_3S_4 are semi-compatible with 'Sorati-e-Hamedan'. In 'Siah-e- Mashhad' and 'Shabestar' only S_3 allele identified and these cultivars were fully compatible with 'Sorati-e-Hamedan'. All cultivars except 'Shoa-al-Saltaneh' had enough flowering date coincidence ($\geq$75) with 'Sorati-e-Hamedan'. Based on the results obtained, 'Shabestar', 'Siah-e-Mashhad', 'Mojtahdi' and 'Germez-e-Rezayieh' cultivars were considered as compatible and suitable pollinizers following by 'Hajyosoufi'. This study showed that, specific amplification of *S*-alleles by polymerase chain reaction is a rapid and useful approach for determination the cross-incompatibility groups and selecting the compatible pollinizers.

Keywords: sweet cherry, self-incompatibility, cross-incompatibility, Pollinizer, polymerase chain reaction

1. Assistant Professors, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan
2. Former MSc Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan

www.SID.ir