

## بررسی کارایی روش‌های میدانی و آزمایشگاهی در مطالعه انتقال صفت خودسازگاری در زردآلو

عمران طاهری<sup>۱</sup> و رحیم قره‌شیخ بیات<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

<sup>۲</sup> استادیار موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

\* نویسنده مسئول: [r.bayat@areeo.ac.ir](mailto:r.bayat@areeo.ac.ir)

### چکیده

به‌منظور اثبات وجود خودسازگاری در ۱۴ هیبرید زردآلو که از تلاقی ارقام ایتالیایی خودسازگار به‌عنوان والد پدری و دو رقم بومی خودناسازگار به نام‌های شمس و شاهرودی به‌عنوان والد مادری به دست آمده بود، اقدام به انجام آزمایشات میدانی و آزمایشگاهی گردید. بررسی درصد تشکیل میوه در باغ پس از خودتلقیحی کنترل شده و آزمون‌های بررسی درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده، تعقیب لوله‌گرده در بافت خامه با میکروسکوپ فلئورسنت در مادگی گل‌های خودتلقیح شده در آزمایشگاه و شناسایی آلل خودسازگاری (Sc) با انجام آزمایش‌های مبتنی بر PCR، در این طرح مورد استفاده قرار گرفت. نتایج درصد تشکیل میوه، خودسازگار بودن سه هیبرید ۴۳۲، ۵۲۶ و ۵۹۲ را نشان داد. نتایج مشاهدات میکروسکوپی، رسیدن لوله‌گرده به تخمدان را در ۶ هیبرید ۳۹۳، ۴۳۲، ۴۵۱، ۴۵۷، ۵۲۶ و ۵۶۵ اثبات کرد. همچنین بررسی محصولات PCR، وجود آلل خودسازگاری را در ۷ هیبرید ۴۳۲، ۴۵۷، ۴۶۲، ۵۲۶، ۵۶۵، ۵۷۳ و ۵۹۲ نشان داد. جمع‌بندی نتایج به دست آمده وجود صفت خودسازگاری را در هیبریدهای ۴۳۲، ۴۵۷، ۵۲۶، ۵۶۵ و ۵۹۲ تأیید کرد. این جمع‌بندی در حالی به دست آمد که غالبیت نتایج مدنظر بود و صرف اتکا به نتیجه یک آزمون، اطمینان‌بخش نبود. ضمناً نتایج جوانه‌زنی دانه‌های گرده در محیط آزمایشگاهی، احتمال نرعیتم بودن هیبرید ۳۹۳ را نشان داد. به‌منظور حصول اطمینان از وجود آلل خودسازگاری، انجام توالی‌یابی قطعات تکثیرشده طی پی‌سی‌آر، در ادامه آزمایش‌ها و تحقیقات آینده ضروری است.

**کلمات کلیدی:** زردآلو، خودناسازگاری، فلئورسنت، پی‌سی‌آر، آلل Sc

### مقدمه

تولید تجاری زردآلو به دلیل داشتن ویژگی‌های خاص از جمله تحمل به کم‌آبی، در سرتاسر دنیا گسترش دارد (Ghahresheikhbayat et al., 2011). بر اساس گزارش سازمان غذا و خوار و بار جهانی (FAO) در سال ۲۰۱۲ میلادی میزان تولید زردآلو بالغ بر ۴۰۳۸۰۰۰ تن بوده است (Anonymous, 2014). در این گزارش کشور ترکیه با ۷۹۵۷۶۸ تن و ایران با ۴۶۰۰۰۰ تن تولید، به ترتیب در رتبه‌های اول و دوم تولید زردآلو در جهان قرار دارند. جایگاه جهانی ایران در تولید زردآلو و اهمیت اقتصادی آن برای باغداران ایرانی، انجام تحقیقات در زمینه به‌نژادی و به‌زراعی این محصول را توجیه می‌کند.

این گونه همانند سایر گونه‌های میوه خانواده Rosaceae یک سیستم خودناسازگاری گامتوفیتیک را بروز می‌دهد، که توسط یک مکان ژنی چندشکلی منفرد با آلل‌های چندگانه کنترل می‌شود (معروف به آلل‌های S). ۲۱ آلل S در زردآلو شناخته شده است، که ۲۰ مورد از آن‌ها برای خودناسازگاری کدگذاری شده‌اند ( $S_1 - S_{20}$ )، و یک آلل خودسازگار ( $S_C$ ) منظور شد (Burgos و همکاران، ۱۹۹۸؛ Albuquerque و همکاران، ۲۰۰۲؛ Halasz و همکاران، ۲۰۰۵ و ۲۰۱۰).

ارقام زردآلو مورد کشت و کار در ایران که جزو گروه آسیایی می‌باشند و تماماً بومی ایران هستند، خودناسازگار بوده و برای باردهی قابل‌قبول نیاز به گرده ارقام گرده‌دهنده دارند. بدین منظور همواره برای احداث باغ‌های زردآلو توصیه به استفاده از ارقام متعدد در بلوک‌های کاشت می‌شود. این موضوع مشکلات عدیده‌ای را از حیث مدیریت باغ‌ها به وجود می‌آورد. در این راستا یکی از اهداف بزرگ محققین زردآلوی کشور توجه به صفت خودسازگاری این ارقام می‌باشد. با ورود تعدادی از ارقام

خارجی خودسازگار که توسط بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۳ انجام گرفت، تعدادی برنامه به نژادی با انجام تلاقی بین این ارقام و ارقام بومی طراحی و اجرا شد. با توجه به امکان توارث این صفت به نتاج، امید می‌رود نمونه‌های جدیدی از زردآلو با داشتن صفت خودسازگاری پدید آیند. با توجه به اینکه تعدادی از این هیبریدها در حال حاضر دوره نونهالی را طی کرده و تولید گل و میوه می‌کنند با استفاده از تکنیک‌های رایج می‌توان از توارث صفت خودسازگاری در آن‌ها اطمینان حاصل نمود (Gharesheikhat, 2016; Andergon and Bassi, 2006).

## مواد و روش‌ها

مشخصات واحد آزمایش - بخش عمده پژوهش در نهالستان و آزمایشگاه‌های مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری و برای بررسی روند رشد لوله‌های گرده در خامه از میکروسکوپ فلئورسنت بخش نانو پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی استفاده شد.

مواد گیاهی - هیبریدهای چهارساله زردآلو واقع در نهالستان پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، تعداد چهارده اصله نهال با کدهای ۳۹۳ - ۴۰۶ - ۴۳۲ - ۴۵۰ - ۴۵۱ - ۴۵۷ - ۴۶۲ - ۴۶۴ - ۵۲۶ - ۵۶۵ - ۵۷۳ - ۵۸۱ - ۵۸۸ - ۵۹۲، که از تلاقی دو رقم ایرانی به نام‌های شمس و شاهرودی به‌عنوان والد مادری و چهار رقم ایتالیایی به‌عنوان والد پدری به دست آمده بودند، تحت بررسی قرار گرفتند.

- تعیین خودسازگاری با استفاده از روش گرده‌افشانی کنترل شده در نهالستان - در مرحله D و E گلدی، از هر هیبرید یک شاخه‌ی گلده قوی با حداکثر تعداد شکوفه قابل قبول (حداقل ۳۰ گل در شاخه مورد نظر) انتخاب و قبل از باز شدن گل‌ها اقدام به ایزوله کردن آن‌ها توسط کیسه‌های اسپان لس شد. گل‌های هر نمونه پس از شکوفایی با نوک انگشت به‌طور جداگانه با گرده خودی خود گرده‌افشانی شدند. دو روز بعد بار دیگر عمل خودگرده‌افشانی صورت پذیرفت و تعداد گل‌های باقیمانده، مجدداً شمارش و بر روی اتکیت ثبت شد. این کار به جهت اطمینان از گرده‌افشانی انجام شد. مجدداً کیسه‌گیری انجام شد. پس از گذشت هشت هفته تعداد میوه‌های تشکیل شده شمارش و ثبت شدند.

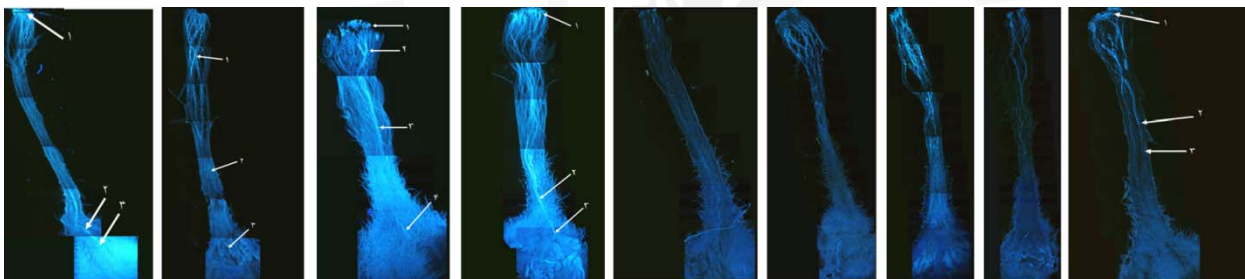
- تهیه شاخه گل بریده - برای تعیین درصد قوه نامیه جوانه‌زنی دانه‌های گرده و به دست آوردن مادگی از هر هیبرید، جهت بررسی نفوذ لوله گرده به درون خامه و مشاهده آن با میکروسکوپ فلئورسنت، از هیبریدهایی که گل‌های آن‌ها به مرحله بالنی (D) رسیده بودند و نیز تعداد گل کافی و قابل قبول داشتند، یک نمونه گل شاخه بریده تهیه شد. روی هر نمونه با نصب اتکیتی شماره هیبرید و تاریخ تهیه درج گردید. سپس هرکدام به‌طور جداگانه در کیسه‌ای قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شدند. گل‌ها با دانه گرده خودی گرده‌افشانی شدند. پس از ۹۶ ساعت، مادگی گل‌ها به کمک اسکالپل جدا شدند و به داخل فیکساتور به تفکیک نمونه منتقل شدند.

- آزمون PCR - در تابستان، از هر هیبرید دو عدد برگ سالم و جوان انتخاب گردید. هر نمونه داخل کیسه‌ای پلاستیکی (زیپ کیپ) قرار گرفت. سپس درون یونولیت محتوی یخ به فریزر ۹۶- درجه سانتی‌گراد منتقل شده و تا انجام مراحل استخراج دی ان ای در این شرایط قرار گرفتند. به کمک پروتوکول CTAB اقدام به استخراج دی ان ای شد. دی ان ای استخراجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر نانودراپ، کمیت و کیفیت‌سنجی شد و به غلظت مناسب برای انجام واکنش‌های مناسب رقیق گردید و با استفاده از آغازگر SRC(F+R) برنامه پی سی آر تنظیم و اجرا شد (Halasz et al., 2005).

## نتایج و بحث

نتایج فروت ست در جدول ۱ آمده است. بر اساس داده‌های به دست آمده، خودسازگاری سه نمونه از هیبریدها به اثبات رسید. در مواردی داده‌ها از دست رفتند. درصد تشکیل میوه بالاتر از ۵ درصد ملاک خودسازگاری منظور شد. جدول شماره ۱- درصد تشکیل نهایی میوه پس از خودگرده‌افشانی کنترل شده

شماره هیبرید	درصد تشکیل میوه	تفسیر
۳۹۳	۴,۱۶	خودناسازگار
۴۰۶	×	×
۴۳۲	۶۶/۶	خودسازگار
۴۵۰	صفر	خودناسازگار
۴۵۱	×	×
۴۵۷	×	×
۴۶۲	صفر	خودناسازگار
۴۶۴	۲,۵	خودناسازگار
۵۲۶	۵۸/۸۲	خودسازگار
۵۶۵	×	×
۵۷۳	صفر	خودناسازگار
۵۸۱	صفر	خودناسازگار
۵۸۸	صفر	خودناسازگار
۵۹۲	۲۵	خودسازگار

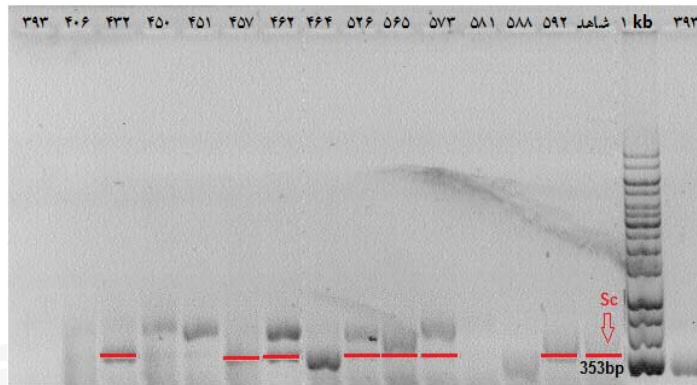


شکل ۱- نمای میکروسکوپی از کل مادگی در تعدادی از هیبریدهای مورد مطالعه. پیکان‌ها نشان‌دهنده حضور لوله‌گرده و امکان تعقیب آن‌ها در مسیر کلاله تا خامه است.

بر اساس مشاهدات به عمل آمده حضور تعداد حتی یک لوله‌گرده در انتهای‌ترین نقطه خامه و داخل تخمدان به مثابه خودسازگار بودن هیبرید مورد مطالعه در نظر گرفته شد. جداول داده‌ها در اینجا ارائه نشده‌اند. بر اساس مشاهدات هیبریدهای شماره ۵۲۶، ۵۶۵، ۳۹۳، ۴۳۲، ۴۵۱ و ۴۵۷ خودسازگار تشخیص داده شدند.

### نتایج بررسی آزمون پی سی آر

تشکیل باندها در محدوده 300 – 600 kb اتفاق افتاد. احتمال خودسازگار بودن نمونه‌های ۴۳۲، ۴۵۷، ۴۶۲، ۵۲۶، ۵۶۵ و ۵۹۲ به علت وجود باند مشابه با باند متعلق به آلل نمونه شاهد، می‌رود.



شکل ۲- الگوی بانندی تشکیل شده برای ۱۴ نمونه پی سی آر شده با استفاده از پرایمر SRC. لدر ۱ kb استفاده شد. عکس برداری شده با ژل داک. نمونه شاهد با نام Kyoto (ScS8)، برای وجود آلل Sc مورد استفاده قرار گرفته است.

### منابع

- Albuquerque N., Egea J., Pérez-Tornero O., Burgos L.,** 2002. Genotyping apricot cultivars for self-(in) compatibility by means of RNases associated with S alleles. *Plant Breeding*, 121: 343–347.
- Burgos L., Pérez-Tornero O., Ballester J., Olmos E.,** 1998. Detection and inheritance of stylar ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. *Sexual Plant Reproduction*, 11: 153–158.
- Gharesheikhsbayat R., Paolo De Franceschi, Luca Dondini, Silvano Sansavini.** 2011. “Ricerche sull'origine dell'autocompatibilità dell'albicocco; Mutazioni spontanee del locus S (della sterilità): confronto fra varietà autofertili e autosterili”. rivista di FRUTTICOLTURA e di ortofloricoltura No.6, Anno LXXII (Italian).
- Halasz J, Hegedus A, Herman R, Stefanovits-Banyai E, Pedryc A.** 2005. “New self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by stylar ribonuclease assay and S-PCR analysis”. *Euphytica*, 145: 57–66.

IrHC 2017  
Tehran - Iran

## Approving Self-Compatibility Trait Segregation in Apricot (*P. armeniaca* L.) Progenies by In-Field Experiments and Laboratory Techniques.

Emran Taheri<sup>1</sup> and Rahim Gharesheikhbayat<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University (Karaj Branch)

<sup>2</sup> Horticultural science Research Institute, Agricultural research and Education Organization (AREO), Karaj, Iran.

\*Corresponding Author: [rahim2002bayat@gmail.com](mailto:rahim2002bayat@gmail.com)

### Abstract

Two Italian self-compatible cultivars as pollen donors were crossed with two famous Iranian native apricots; SHAMS and SHAHROODI, as seed plants at Karaj Horticultural Research Center. In order to confirm the presence of Sc allele in 14 apricot hybrids obtained during this breeding program, in-field controlled self-pollination was applied. In laboratory, pollinated pistils were also studied by following pollen tubes using fluorescent microscope. PCR-based technique was also organized. Fruit set tests indicated the self-compatibility of three hybrids. Microscopy observations confirmed the self compatibility of 6 hybrids as three of them had acceptable self-fruit set in field. The presence of Sc allele related band on Agarose gel electrophoresis pattern for 7 samples also has reported. The low rate of pollen germination was recorded for one hybrid indicating possible male sterility. All together, the Sc allele heritability seems to be simple in apricot.

**Key words:** Apricot (*P.armeniaca* L.), self-incompatibility, fluorescent microscopy, Sc allele.

