

مطالعه آلل‌های خود(نا)سازگاری در ژنوتیپ‌های امیدبخش زردآلو به روش توالی‌یابی

محمد زرین‌بال^{۱*}، بهرام باغبان کهنه‌روز^۲، علی سلیمانی^۳، شهنوش نیری^۴، مرتضی کوثری‌نسب^۵، جلیل دژم‌پور^۶

حمید رهنمون^۶

^۱ دانشجوی دکتری فیزیولوژی و اصلاح درختان میوه، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

^۲ دانشیار گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

^۳ دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

^۴ دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی گیاهی، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و زیست‌فناوری، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

^۵ مربی پژوهشکده تحقیقاتی حیان، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز

^۶ دانشیار بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، تبریز

^۷ استادیار بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، تبریز

* نویسنده مسئول: blacktulip53@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در ۲۶ رقم و ژنوتیپ امیدبخش زردآلو (*Prunus armeniaca* L.) حاصل از برنامه‌های اصلاحی انجام گرفت. خودناسازگاری از مهم‌ترین عوامل ژنتیکی مؤثر در تشکیل میوه زردآلو می‌باشد. اکثر ارقام تجارتي زردآلو خود ناسازگار و برخی نیز دگر ناسازگار هستند. خود ناسازگاری در زردآلو از نوع گامتوفیتیک بوده و توسط یک مکان ژنی با چند شکل آللی کنترل می‌شود. شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در زردآلو برای احداث باغات جدید و یا انتخاب والدین در برنامه‌های به‌نژادی زردآلو حائز اهمیت است. در این مطالعه آلل‌های خودناسازگاری در تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های زردآلو به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) و با استفاده از آغازگرهای ویژه بر اساس توالی نواحی حفاظت شده مکان ژنی خودناسازگاری در جنس پرونوس تکثیر شدند. پس از الکتروفورز محصول پی سی آر، انجام کلونینگ و توالی‌یابی قطعات مورد نظر، میزان تشابه توالی‌ها با استفاده از برنامه FASTA و مراجعه به پایگاه اطلاعاتی NCBI بررسی گردید و آلل‌های مربوط به ژن *S-RNase* در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تعیین شدند. به کمک توالی اسید نوکلئیکی آلل‌های شناسایی شده، تعیین ژنوتیپ *S* در ارقام مورد مطالعه با اطمینان بیشتری امکان‌پذیر بوده و یک روش مکمل برای شناسایی آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از دی ان ای ژنومی ارقام زردآلو فراهم می‌کند.

کلمات کلیدی: خود(نا)سازگاری، زردآلو، توالی‌یابی، *S-RNase*

مقدمه

درخت زردآلو (*Prunus armeniaca* L.) بومی چین و آسیای مرکزی است که به تیره گلسرخیان^۱ و جنس پرونوس^۲ تعلق دارد (Janick and Moore., 1996). میوه‌دهی زردآلو تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی مختلفی است که از عوامل ژنتیکی مهم می‌توان به خودناسازگاری زردآلو اشاره کرد. خودناسازگاری پدیده‌ای است که مانع خودباروری از طریق مکانیزم شناسایی دانه‌گرده- مادگی می‌گردد و نتیجه آن منع انتخابی رشد لوله‌گرده‌ای است که توسط مادگی به‌عنوان خودی شناخته شده است. در این حالت هر دو اندام جنسی نر و ماده کارآمد بوده ولی گیاه توانایی باروری و تشکیل بذر پس از خودگرده‌افشانی را ندارد (Nikzad Gharehaghaji, 2014). این ویژگی در خانواده گلسرخیان و از جمله زردآلو به‌صورت خودناسازگاری گامتوفیتیک، همومورفیک و تک عاملی چند آللی

¹ Rosaceae

² Prunus

³ Self

کنترل می‌شود (Vilanova *et al.*, 2005). در این نوع ناسازگاری چنانچه S-haplotype لوله‌گرده در حال رشد درون خامه با یکی از دو آلل مادگی همانند باشد، رشد لوله‌گرده متوقف می‌شود. دلیل این توقف، فعالیت آنزیم ریبونوکلاز است که RNA را از بین برده و در نتیجه پروتئین مورد نیاز برای رشد لوله‌گرده تأمین نمی‌شود. (Wang *et al.*, 2010). قبلاً محققین برای ارزیابی خودناسازگاری در درختان میوه از روش‌های کلاسیک مانند تلاقی‌های کنترل شده در باغ و محاسبه میزان میوه‌بندی پس از خودگرده‌افشانی استفاده می‌کردند. در این روش تمایز دقیق بین ترکیب به‌طور کامل سازگار و نیمه سازگار مشکل و گاهی خطا برانگیز است. افزون بر این، برای انجام تلاقی‌های کنترل شده، لازم است که درختان وارد مرحله گلدهی شده باشند و نیز نتایج به دست آمده به مقدار زیادی تحت تأثیر عوامل محیطی و فیزیولوژیکی درخت قرار می‌گیرند. (Halasz *et al.*, 2008).

مطالعه سیستم خودناسازگاری با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز^۴ (PCR) به‌عنوان یک روش سریع، ساده و دقیق ضمن شناسایی نوع آلل‌های S، امکان تفکیک ارقام خودسازگار و خودناسازگار را فراهم می‌آورد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تعیین وضعیت ناسازگاری، روشی سریع‌تر و آسان‌تر از سایر روش‌ها است و تحت تأثیر عوامل مرتبط با گرده‌افشانی قرار نمی‌گیرد. مزیت روش‌های مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در آن است که به درختان بالغ و گل برای تعیین ناسازگاری نیاز نبوده و با استفاده از مقدار اندکی از بافت گیاهی می‌توان آلل‌های ناسازگاری را در ژنوتیپ مورد مطالعه تعیین کرد (Gu *et al.*, 2009). آلل‌های S و گروه‌های ناسازگاری تعدادی از درختان میوه مانند گیلاس (Sonneveld *et al.*, 2003)، بادام (Halasz *et al.*, 2008)، سیب (Okada *et al.*, 2013)، گلابی (Nikzad *et al.*, 2014)، آلو (Yamane *et al.*, 1998) و زردآلو (Burgos *et al.*, 1998; Feng *et al.*, 2009) با استفاده از روش‌های مولکولی گزارش شده است. با توجه به اینکه تاکنون خود(نا)سازگاری تعدادی از ژنوتیپ‌های امیدبخش حاصل از برنامه به‌نژادی زردآلو تعیین نشده است، لذا هدف از انجام این پژوهش تعیین خود(نا)سازگاری آن‌ها با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و توصیه‌های لازم برای احداث باغ و پیشبرد برنامه‌های به‌نژادی زردآلو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۲۶ رقم و ژنوتیپ زردآلو شامل پنج رقم تجاری خارجی (Vilanova *et al.*, 2005) و ۲۱ رقم و ژنوتیپ امیدبخش حاصل از برنامه به‌نژادی زردآلو (Dejampour *et al.*, 2011) روی پایه بذری در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی انتخاب شدند. منشأ، شجره و ویژگی مهم این ارقام و ژنوتیپ‌ها در جدول یک آورده شده است. DNA ژنومی از برگ‌های جوان درختان زردآلو بر اساس روش CTAB استخراج شد (Feng *et al.*, 2009). کیفیت و کمیت DNA با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز تعیین گردید. نمونه‌های DNA پس از رقیق‌سازی به نسبت مورد نیاز در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مورد استفاده قرار گرفتند (Vilanova *et al.*, 2005). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۰ میکرو لیتر شامل ۱۰ میکرو لیتر Master Mix 2X (با شماره کاتالوگ A190301 شرکت Ampliqon دانمارک)، ۰/۵ میکرو مولار از هر آغازگر، ۸۰ نانوگرم DNA ژنومی و ۶ میکرو لیتر آب مقطر دیونیزه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر اپندورف (آلمان) انجام شد. چرخه دمایی مورد استفاده برای آغازگرهای SRcR و SRcF (جدول ۲) شامل ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه با ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در دمای ۵۴ درجه سانتی‌گراد، ۷۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در پایان ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود (Vilanova *et al.*, 2005).

⁴ Polymerase Chain Reaction

جدول ۱- اسامی، شجره، منشأ و ویژگی مهم ارقام و ژنوتیپ‌های زردآلوی مورد مطالعه

No	Cultivar/Genotype	pedigree	Origin	Property
1	AD 1042	AC404 × Maragheii90	Iran	Dried
2	AD 503	Aybatan × Nasiri90	Iran	Dried
3	HS 731	GER × Nasiri90	Iran	Fresh
4	AD 626	GER × Ordoubad 90	Iran	Dried
5	KOSH 269	Unknown	Iran	Fresh
6	GT 390	Unknown	Iran	Dried
7	ASG	Unknown	Iran	Dried
8	Aybatan	Unknown	Iran	Fresh
9	Ordoubad 90	Unknown	Iran	Dried
10	NM 177	Unknown	Iran	Fresh
11	GER	Unknown	Iran	Fresh
12	HB 190	Unknown	Iran	Dried
13	Canino	Unknown	Italy	Dried
14	SS	Unknown	Iran	Fresh
15	San Castrese	Unknown	Italy	Fresh
16	AD 731	Canino × Aybatan	Iran	Fresh
17	HS 203	Maragheii90 × Nasiri90	Iran	Dried
18	Palumella	Unknown	Italy	Fresh
19	Cafona	Unknown	Italy	Dried
20	Harcot	(Geneva Narmata) Modern 604 × NJA1	Canada	Dried
21	AD 509	Maragheii90 × Nasiri90	Iran	Dried
22	DM 101	Unknown	Iran	Fresh
23	AD 640	Aybatan × Canino	Iran	Fresh
24	AC 103	Unknown	Iran	Dried
25	HS 222	GER × Ordoubad 90	Iran	Fresh
26	AD 740	Maragheii90 × Canino	Iran	Fresh

همچنین چرخه دمایی مورد استفاده برای آغازگرهای PaConsIR و PaConsIF بر اساس روش سونولد و همکاران (2003) انجام گرفت. الکتروفورز محصول PCR در بافر TAE (1X) شامل (Tris/Acetic acid/EDTA) انجام و برای جداسازی فرآورده‌های تکثیر شده از ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. اندازه نوارهای به دست آمده با استفاده از سایز مارکر استاندارد (Gene Roller 100bp) تعیین شد. (Kodad et al., 2013).

جدول ۲: آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر قطعاتی از ژن کنترل کننده خود ناسازگاری (*S-RNase*)

منبع	توالی (5'-3')	آغازگرها
Vilanova, 2005	CTCGCTTTCCTTGTTCTTGC	SRcF
Vilanova, 2005	GGCCATTGTTGCACAAATTG	SRcR
Sonneveld, 2003	(C/A)CTTGTTCTTG(C/G)TTT(T/C)GCTTCTTC	PaConsIF
Sonneveld, 2003	CATG(A/G)ATGGTGAA(A/G)T(T/A)TTGTAATGG	PaConsIR

به‌منظور انجام همسانه‌سازی، محصول PCR با استفاده از کیت خالص‌سازی DNA از ژل مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده خالص‌سازی و کیفیت آن روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر TAE تعیین شد. برای همسانه‌سازی DAN هدف از ناقل pTG19-T استفاده شد و سپس به باکتری‌های مستعد *Escherichia coli* (competent) TOP10 منتقل گردید. باکتری‌های حامل DNA هدف روی محیط LB در حضور آنتی‌بیوتیک آمپی سیلین (۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) انتخاب شدند و استخراج DNA پلاسمیدی با استفاده از کیت استخراج پلاسمید انجام شد. DNA پلاسمیدی استخراج شده توسط کیت، پس از بررسی کمیت و کیفیت توسط الکتروفورز ژل آگارز یک درصد، جهت توالی‌یابی به شرکت 1st Base کشور مالزی ارسال گردید. در نهایت میزان تشابه توالی

اسید آمینه هر آلل با توالی اسید آمینه سایر آللهای موجود در جنس پرونوس در پایگاه اطلاعاتی موسسه بیوانفورماتیک آمریکا (www.ncbi.nlm.nih.gov) به روش BLAST توسط برنامه کلاستال امگا (Clustal Omega) مقایسه شد و آللهای مورد مطالعه تعیین شدند (Vilanova et al., 2005; Feng et al., 2009).

نتایج و بحث

تکثیر آللهای *S* با استفاده از آغازگرهای ویژه مربوط به اینترون اول نشان داد که ۲۱ ژنوتیپ از ۲۶ ژنوتیپ مورد بررسی دو نوار مربوط به آللهای *S* را به همراه داشتند ولی در پنج ژنوتیپ دیگر این آغازگرها تنها یک آلل را تکثیر کردند (شکل ۱).

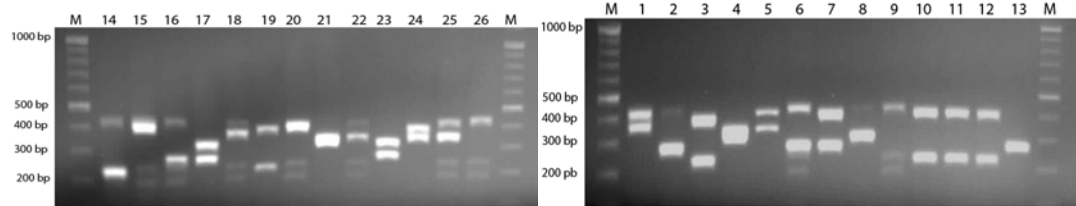


Fig. 1: PCR amplification of apricot genomic DNA with consensus primers (SRcF/SRcR) for the *S-RNase* first intron. Samples are: (1) 'Canino', (2) 'HB 190', (3) 'GER', (4) 'NM 177', (5) 'Ordoubad 90', (6) 'Aybatan', (7) 'ASG', (8) 'GT', (9) 'KOSH', (10) 'AD 626', (11) 'HS 731', (12) 'AD 503', (13) 'AD 1042', (14) 'AD 740', (15) 'HS 222', (16) 'AC 103', (17) 'AD 640', (18) 'DM 101', (19) 'AD 509', (20) 'Harcot', (21) 'Cafona', (22) 'Palummella', (23) 'HS 203', (24) 'AD 731', (25) 'San Castrese', (26) 'SS', (M) 100 bp DNA ladder.

توالی اسید آمینه‌ای در آللهای تکثیر شده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با آللهای *S-RNase* گزارش شده در گونه‌های دیگر پرونوس مشابهت زیادی (بیش از ۸۶ درصد) داشت ولی توالی نوکلئوتیدی این آلل‌ها تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی نشان دادند (داده‌ها نشان داده نشده است). به هر حال وجود مشابهت زیاد و یا تشابه کامل دو آلل در توالی اسیدهای آمینه نمی‌تواند بیانگر کارکرد مشابه دو آلل باشد (Ortega et al., 2006). لوپز و همکاران (2004) گزارش کردند که موتاسیون‌های نقطه‌ای و حذف قسمتی از توالی اینترون آللهای *S* منجر به تفاوت بین این آلل‌ها می‌شود. بنابراین تفاوت در توالی آلل‌ها به ایجاد چند شکلی بین آن‌ها منجر شده و این موتاسیون‌ها می‌توانند در توالی اسیدهای آمینه مؤثر بوده و باعث نقش اختصاصی آلل‌ها و تفاوت بین آن‌ها شوند. (Kodad et al., 2013). وجود تشابه بین توالی اسیدهای آمینه در آللهای ناسازگاری زردآلو با سایر گونه‌های جنس پرونوس توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Vilanova et al., 2005). قره شیخ بیات و همکاران (2011) آللهای خودناسازگاری را در رقم زردآلوی اروپایی از طریق روش‌های کلاسیک و مولکولی شناسایی کردند و نشان دادند که تعیین ژنوتیپ خودناسازگاری به کمک توالی‌یابی اسیدهای نوکلئیک در مقایسه با سایر روش‌ها دارای اطمینان و دقت بالایی است. استفاده از این روش در تعیین آللهای جدید و یا تأیید آللهای شناسایی شده در بادام (Ortega et al., 2006)، گیلاس (Sonneveld et al., 2003) و زردآلو (Xu et al., 2010; Ghareshikh Bayat et al., 2011) گزارش شده است. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که آللهای جدید در ارقام و ژنوتیپ‌های بومی زردآلو وجود داشته و بیانگر چند شکلی زیاد در ژن مسئول خود ناسازگاری در جمعیت‌های زردآلو است. در واقع منطقه ایران-قفقاز باید یکی از مراکز اصلی تنوع زردآلو باشد. توالی‌یابی نوکلئوتیدهای موجود در ساختمان آللهای خودناسازگاری، یکی از روش‌های دقیق و کارآمد جهت شناسایی آللهای خودناسازگاری است. به نظر می‌رسد تنوع آللهای *S* بسیار زیاد بوده و گاهی چندشکلی در اندازه آلل‌ها برای تعیین یک آلل خاص کافی نمی‌باشد. مطالعه ژنوتیپ‌ها و ارقام از مناطق مختلف آللهای جدیدی را معرفی خواهد کرد و تلاش‌هایی لازم است تا نسبت به حذف آللهای تکراری (Synonyms) از بانک‌های اطلاعاتی اقدام شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، دانشگاه زنجان، دانشگاه تبریز و پژوهشکده تحقیقاتی حیان به جهت همکاری در اجرای این پژوهش قدردانی می‌نمایند.

منابع

- Albuquerque, N., Egea, J., Perez-Tornero, O. and Burgos, L. 2002. Genotyping apricot cultivars for self-(in)compatibility by means of RNase associated with S alleles. *Plant Breeding*. 121: 343-347.
- Burgos, L., Perez-Tornero, O., Ballester, J., and Olmos, E. 1998. Detecting and inheritance of stylar ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. *Sex Plant Reprod*. 11: 153-158.
- Dezhampour, J., Rahnemoun, H. and Zarrinbal, M. 2011. Investigation of Main Factors on Bearing and Blossoms Hardiness of Apricot Cultivars in Relative Flowers Biology. *Acta Horticulturae*. 966:51-55.
- Feng, J. R., Chen, X. S., Yuan, Z. H., Zhang, L. J., Ci, Z. J., Liu, X. L. and Zhang, C. Y. 2009. Primary molecular features of self-incompatible and self-compatible F1 seedling from apricot (*Prunus armeniaca* L.) Katy×Xinshiji. *Molecular Biology Reprod*. 36: 263-272.
- Garesheikhhayat, R., Dondini, L. and Sansavini, S. 2011. Identification of self-incompatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) using multi-level approaches. *Seed and Plant Improvement Journal*. 27(1): 411-426. (in Persian).
- Gu, Q., Zhang, Q., Hu, H., Chen, Q., and Luo, Z. 2009. Identification of self-incompatibility genotypes in some sand pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai.) by PCR-RFLP analysis. *Agricultural Sciences in China*. 8: 154-160.
- Halasz, J., Fodor, A., Hegedus, A., and Pedryc, A. 2008. Identification of a new self-incompatibility alleles (S31) in a Hungarian almond cultivar and its reliable detection. *Scientia Horticulturae*. 116: 448-451.
- Janick, J., and Moore, J. N. 1996. *Fruit Breeding: Volume I, Trees and Tropical Fruits*. John Wiley and Sons Inc., New York, USA.
- Kodad, O., Hegedus, A., Socias I Company, R. and Halasz, J. 2013. Self-(in)compatibility genotypes of Moroccan apricots indicate differences and similarities in the crop history of European and North African apricot germplasm. *BMC Plant Biology*. 13: 196-206.
- Lopez, M., Mnejja, M., Rovira, M., Collins, G., Vargas, F. J., Arus, P. and Batlle, I. 2004. Self-incompatibility genotypes in almond re-evaluated by PCR, stylar ribonucleases, sequencing analysis and controlled pollinations. *Theoretical and Applied Genetics*. 109: 954-964.
- Nikzad Gharehaghaji, A., Arzani, A., Abdollahi, H., Shojaeiyan, A., Dondini, L. and De Franceschi, P. 2014. Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases in the Central Asian pear germplasm and introgression of new alleles from other species of the genus *Pyrus*. *Tree Genetics & Genomes*. Published Online.
- Okada, K., Moriya, S., Haji, T. and Abe, K. 2013. Isolation and characterization of multiple F-box genes linked to the S9-and S10-RNase in apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Molecular Biology Reprod*. 26(2): 101-111.
- Ortega, E., Boskovic, R., Sargent, D. J. and Tobutt, K. R. 2006. Analysis of S-RNase alleles of almond (*Prunus dulcis*): characterization of new sequences, resolution of synynms and evidence of intragenic recombination. *Molecular Genetics and Genomics*. 276: 413-426.
- Sonneveld, T., Tobbut, K. R., and Robbins, T. P., 2003. Alleles-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) allele S1-S16 using consensus and alleles-specific primers. *Theoretical and Applied Genetics*. 107: 1059-1070.
- Vilanova, S., Romero, C., Liacer, G., and Badenes, M. L. 2005. Identification of self (in)-compatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) by PCR and sequence analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 130: 893-898.
- Wang, H., Zhang, K., Su, H., and Naihaoya, K. 2010. Identification of the S-genotypes of several sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars by AS-PCR and pollination. *African Journal of Agricultural Research*. 5: 250-256.
- Xu, J., Gao, Zh. And Zhang, Zh. 2010. Identification of S-genotypes and novel S-RNase alleles in Japanese apricot cultivars native to China. *Scientia Horticulturae*. 123: 459-463.
- Yamane, H., Tao, R., and Sugiura, A. 1998. PCR cloning of cDNA encoding S-RNase in two species of *Prunus*, *Prunus mume* and *Prunus saliciana*. *Breeding Science*. 48: 216-221.

Study of Self-(In)Compatibility Alleles in Some Promising Apricot Genotypes by Sequence Analysis

M. Zarrinbal¹; B. Baghban Kohnehrouz²; A. Soleimani³; Sh. Nayeri⁴; M. Kousari Nasab⁵; J. Dejampour⁶; and H. Rahnemoun⁷

¹PhD Student at Physiology and Breeding on Fruit Trees, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

²Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

³Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan

⁴PhD Student at Plant Biotechnology, Department of Biotechnology, Faculty of life science and Biotechnology, Shahid Beheshti University G.C., Tehran

⁵Instructor, Hayan Research Institute, Faculty of Natural Science, University of Tabriz

⁶Associate Professor, Department of crops and Horticulture, East Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Educational Center, AREEO, Tabriz

⁷Assistant Professor, Department of crops and Horticulture, East Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Educational Center, AREEO, Tabriz

*Corresponding Author blacktulip53@yahoo.com

Abstract

The *S*-genotypes of 26 apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars and promising genotypes derived from breeding program were determined in this study. Self-incompatibility is one of the most important genetically factors of fruit set of apricot. Most of apricot cultivars are self-incompatible but cross-incompatibility is shown in some cultivars. Apricot shows gametophytic self-incompatibility controlled by a single locus with several allelic variants. Identification of self-incompatibility alleles in apricot is critical for construction of new orchards or performing apricot breeding programs. This study was carried out to amplify self-incompatibility alleles of some apricot cultivars and genotypes using polymerase chain reaction (PCR) by specific primers based on conserved regions of *Prunus S-RNases*. After electrophoresis of PCR products, cloning and sequencing of intended components were done and identifying of obtained sequences were investigated using FASTA program based on NCBI gene bank, so different alleles of *S-RNase* in these cultivars were identified. By nucleic acid sequencing of identified *S-RNase* alleles, *S*-genotyping of studied genotypes is achieved by more confidence and it provides a complementary method to identification of self-incompatibility alleles using genomic DNA of apricot cultivars.

Key words: apricot, self-(in)compatibility, sequencing, *S-RNase*

