

## تعیین آلل های خودناسازگاری در برخی از ارقام سیب ایرانی و خارجی

مجتبی نصرآبادی (۱)، اسماعیل سیفی (۲)، سیده ساناز رمضانپور (۳)، مهدی شریفانی (۴)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ۲ و ۴- گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان ۳- گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

درختان سیب همانند تعدادی دیگر از میوه های تیره رزاسه خودناسازگارند. سیستم خودناسازگاری در سیب بوسیله یک مکان ژنی با چند آلل کنترل می شود. در این مطالعه خودناسازگاری در نه رقم سیب بوسیله واکنش زنجیره ای پلی مرز و با استفاده از ۱۲ آغازگر ویژه آلل های  $S_1, S_2, S_3, S_4, S_5, S_9, S_{18}, S_{19}, S_{20}, S_{23}, S_{24}, S_{26}$  مطالعه شد. در پنج رقم هر دو آلل شناسایی شد شامل گلاب اصفهان ( $S_{18}, S_{24}$ )، گلاب نوری مراغه ( $S_4, S_{23}$ )، قاسم شاهی ( $S_1, S_{23}$ )، گلمکانی ( $S_3, S_{23}$ ) و ملکه لبنان ( $S_{23}, S_{24}$ ) ولی در چهار رقم فقط یک آلل شناسایی شد.

کلمات کلیدی: خودناسازگاری، آلل، سیب، پلی مرز، مکان ژنی

مقدمه

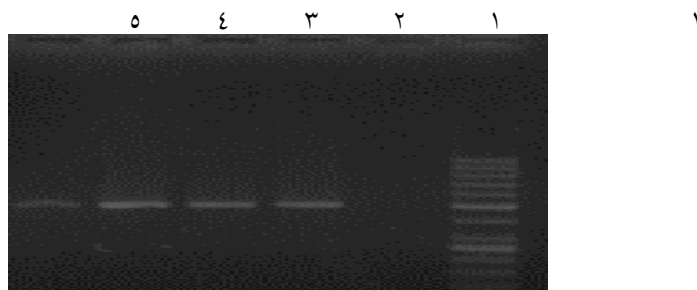
اکثر ارقام سیب خودناسازگار هستند و ناسازگاری آنها از نوع گامتوفیتیک است (هگدوس ۲۰۰۶). خودناسازگاری گامتوفیتیک تنها توسط یک جایگاه ژنی با چند آلل کنترل می شود (بوسررت و همکاران ۱۹۹۵). هوی و همکاران (۲۰۰۶) آلل های ناسازگاری در ارقام هونگرو ( $S_1, S_3$ )، گامبونگ ( $S_1, S_9$ )، سانارا ( $S_1, S_3$ )، هوارنگ ( $S_1, S_9$ ) و اس ای بی ( $S_1, S_{19}$ ) را تعیین کردند. خودناسازگاری گامتوفیتیک باعث کاهش خودباروری و تشکیل میوه و همچنین در برخی ارقام باعث تشکیل میوه پارتنوکارپ با کیفیت پایین می شود در حالیکه که برای بدست آوردن یک محصول با کیفیت و عملکرد بالا وجود گرده سازگار ضروری است. همچنین ممکن است ارقام مختلف آلل های خودناسازگاری مشابه داشته باشند که باعث دگرناسازگاری بین ارقام می شود. استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مرز یکی از روش های جدید تعیین آلل های خودناسازگاری است. در این روش بدون نیاز به گل و گرده افشانی و همچنین در مراحل نونهالی می توان سازگار و ناسازگار بودن ارقام را نسبت به یکدیگر مشخص کرد. کاشت ارقام سازگار در ایجاد باغ های تجاری از اهمیت زیادی برخوردار است. این پژوهش بر روی ۷ رقم سیب ایرانی و ۲ رقم سیب خارجی موجود در کلکسیون درختان سیب وابسته به مرکز تحقیقات طرق مشهد با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مرز صورت گرفت.

مواد و روش ها

ارقام مورد آزمایش شامل ۷ رقم سیب ایرانی (گلاب اصفهان، گلاب نوری مراغه، خوجه تربت، قاسم شاهی، گلمکانی، محلی خرو، اوقان شیروان) و ۲ رقم سیب خارجی (ملکه لبنان و بل در انوار) بود. نمونه برداری از برگها در مرداد ماه ۱۳۸۹ انجام شد. نمونه ها در ازت مایع به آزمایشگاه حمل و تا زمان استفاده در داخل یخچال ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. استخراج دی.ان.ا با روش دوپیل دوپیل البته با کمی تغییر انجام شد. که بعد از استخراج کیفیت و کمیت دی.ان.ا با استفاده از اسپکتوفتومتر اندازه گیری شد و در صورت لزوم استخراج تکرار گردید. تکثیر آلل های خودناسازگاری با استفاده از ۱۲ جفت آغازگر (جدول ۱) با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مرز در حجم ۲۰ میکرولیتر صورت گرفت.

| اندازه باندهای تولیدی | 5'-3' توالی  | آغازگر               | آلل خودناسازگاری |
|-----------------------|--|----------------------|------------------|
| 734                   | TGTAAGGCACCGCCATATCATA<br>CAACCTCAACCAATTCAGTCAATGA    | MdS1SpF<br>MdS1SpR   | S1               |
| 489                   | AACATGAATCGAAGTGAATTATTTA<br>TTGAGGTTTGGTTCCTTACCATG   | MdS2SpF<br>MdS2SpR   | S2               |
| 292                   | GGCAGAAAATTAACCGAGAAGAA<br>CCTCTCGTCTATATATGGAAATCAC   | MdS3SpF<br>MdS3SpR   | S3               |
| 533                   | ATTGCAAGACAAGGAATCGTCGGAA<br>AGAAAATGTGCTCTGTTTTATCG   | MdS4SpF<br>MdS4SpR   | S4               |
| 1447                  | GGTCAAACCCACGGCGTCTCA<br>ATTCAGTTATCCCATTCTTCG         | MdS5SpF<br>MdS5SpR   | S5               |
| 522                   | CCACITTAATCCTACTCCTTGTAGA<br>TCAATTCCTTCTGTGTCCTGAATT  | MdS9SpF<br>MdS9SpR   | S9               |
| 355                   | ATCGAACTGATCATGTIAGGC<br>TATCGTGAACCTTGTGGTGG          | DS2<br>DA1           | S18              |
| 481                   | GCCTTCAAACAAGAATGGACC<br>TCAATATCCACCAATGACCTGTT       | MdS19SpF<br>MdS19SpR | S19              |
| 882                   | GTTGTGGCCTTCAGACTCG<br>GGCCAACTACTTTTATTTTCATC         | MdS20SpF<br>MdS20SpR | S20              |
| 450                   | AAGAATACAACCATTACGCCTCAGC<br>ATTGTTGGTACTAATGCTTATGGCG | MdS23SpF<br>MdS23SpR | S23              |
| 421                   | ATGGCTCCTGTGCGTCTTCCC<br>CGTCATCCGTGTATAGGGCAACT       | MdS24SpF<br>MdS24SpR | S24              |
| 423                   | TCCATCAAACGTGACTTCTCAT<br>ATCCTTCAGCATCCTGATTTCG       | MdS26SpF<br>MdS26SpR | S26              |

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده برای شناسایی آللهای خودناسازگاری در ارقام سیب سپس نمونه‌ها را روی ژل آگارز یک درصد عمل ران کردن انجام شد و عکس برداری در زیر نور فرابنفش صورت گرفت. شکل ۱ باندهای اختصاصی آلل S<sub>1</sub> را در چند رقم نشان می‌دهد



شکل ۱- باندهای اختصاصی آلل S<sub>1</sub> در ارقام ملکه لبنان<sup>۱</sup>، قاسم شاهی<sup>۲</sup>، محلی خرو<sup>۳</sup>، خوجه تربت<sup>۴</sup>، اوقان شیروان<sup>۵</sup> نتایج و بحث

در این آزمایش از ۱۲ جفت آغازگر برای شناسایی آللهای خودناسازگاری در ۹ رقم سیب ایرانی استفاده شد. برخی از این آغازگرها در هیچ رقمی باند تشکیل ندادند و یا باندهای غیر تخصصی تکثیر کردند. در ۵ رقم هر دو آلل ناسازگاری مشخص شد. ولی در ۴ رقم فقط یک آلل دیده شد (جدول ۲).

| ارقام           | ژنوتیپ خودناسازگاری               | ارقام        | ژنوتیپ خودناسازگاری |
|-----------------|-----------------------------------|--------------|---------------------|
| گلاب اصفهان     | S <sub>18</sub> , S <sub>24</sub> | محلی خرو     | S <sub>1</sub>      |
| گلاب نوری مراغه | S <sub>4</sub> , S <sub>23</sub>  | خواجه تربت   | S <sub>1</sub>      |
| قاسم شاهی       | S <sub>1</sub> , S <sub>23</sub>  | اوقان شیروان | S <sub>4</sub>      |
| گلمکانی         | S <sub>3</sub> , S <sub>23</sub>  | بل درانوار   |                     |
| ملکه لبنان      | S <sub>23</sub> , S <sub>24</sub> |              |                     |

جدول ۲- آللهای شناسایی شده در بعضی از ارقام بومی سیب ۱ ۲ ۳ ۴ ۵

پیش از این ارشادی (۱۳۸۲) در بررسی روی ارقام ایرانی هیچ گونه آلی در رقم گلاب اصفهان گزارش نکرد، در حالیکه در آزمایش حاضر هر دو آلل این رقم (S<sub>18</sub>, S<sub>24</sub>) مشخص شد. نتایج نشان داد که رقم گلمکانی دارای آللهای S<sub>3</sub> و S<sub>23</sub> است. این آللهای در ارقام کاردینال و درومبر (آقای لونگ و همکاران، ۲۰۱۰) و گرانی اسمیت (بوردرز، ۲۰۰۳) گزارش شده‌اند و در نتیجه این ارقام با یکدیگر ناسازگاری دارند. در برخی از ارقام که فقط یک آلل مشخص شده ولی ممکن است آللهای دیگری نیز وجود داشته باشند که هنوز شناسایی نشده‌اند و برای آنها آغازگر اختصاصی تولید نشده باشد. اگر چه این روش قادر به شناسایی تمام آللهای خودناسازگاری در ارقام مورد مطالعه نگردید ولی می‌تواند در نهالهای جوان و حتی بذور درختان مورد استفاده قرار گیرد، که این مسئله یک نوع برتری نسبت به روشهای تلاقی کنترل شده و بررسی ایزوآنزیم ریبونوکلئازهای خامه گل محسوب می‌شود (ارشادی و همکاران ۱۳۸۲). برای دستیابی به نتایج بهتر و اطلاعات بیشتر و برای کمک به باغداران بررسی روابط ژنتیکی بین ارقام و ناسازگاری کرده با استفاده از گرده افشانی دستی پیشنهاد می‌شود.

منابع

- ۱- ارشادی، ا. ۱۳۸۲. بررسی گرده‌افشانی و تشکیل میوه و ارزیابی ارقام سیب ایرانی با استفاده از نشانگرهای مولکولی، پایان نامه دکتری دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
- 2- Broothaerts W (2003) New findings in apple S-genotype analysis resolve previous confusion and request the re-numbering of some S-alleles. *Theor Appl Genet* 106:703–714
- 3- Broothaerts W, Janssens GA, Proost P, Broekaert WF (1995) Cdna cloning and molecular analysis of two self-incompatibility alleles from apple. *Plant Mol Biol* 27:499–511
- 4- Hegedus, A. 2006. Review of the self-incompatibility in apple (*Malus × domestica* Borkh., syn.: *Malus pumila* Mill.). *International Journal of Horticultural Science*, 12 (2): 31–36
- 5- Hoy TK, Hattori G, Hirata Y, Dae KI, Jeong HH, Yong US, Ill SN (2006) Determination of self-incompatibility genotypes of Korean apple cultivars based on S-RNase PCR. *J Plant Biol* 49(6):448–454
- 6- Long, Sh., Li, M., Han, Z., Wang, K and Li, T. 2010. Characterization of three new S-alleles and development of an S-allele-specific PCR system for rapidly identifying the S-genotype in apple cultivars. *Tree Genetics & Genomes* 6:161–168

### **Determination of self-incompatible allele in some Iranian and foreign apple cultivars**

#### **Abstract**

Apple trees like some of the other fruits of rosacea are family self-incompatible. The self-incompatibility system of apple was controlled by one locus with some alleles. In this study the self-incompatibility of nine apple cultivar were studied in polymerase chain reaction. Using 12 specific primers showing S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>9</sub>, S<sub>18</sub>, S<sub>19</sub>, S<sub>20</sub>, S<sub>23</sub>, S<sub>24</sub>, S<sub>26</sub>. In five cultivars both alleles including Golab Esfahan(S<sub>18</sub>, S<sub>24</sub>), Golab Noori Maragheh(S<sub>4</sub>, S<sub>23</sub>), Ghasemshahi(S<sub>1</sub>, S<sub>23</sub>), Golmakani(S<sub>3</sub>, S<sub>23</sub>) and Malakeh Labinani(S<sub>23</sub>, S<sub>24</sub>) have been recognized in four cultivars and one allele .

**Key words:** self-incompatible, allele, apple, polymerase, locus