

تعیین آلل S₁ خودناسازگاری در بعضی از ارقام بومی سیب با سه آغازگر مختلف 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

در مطالعه حاضر که بر روی ۱۸ رقم سیب بومی ایران صورت گرفت آلل خودناسازگاری S₁ با استفاده از سه نوع آغازگر مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۷۲٪ ارقام (۱۳ تا از ۱۸) دارای آلل S₁ می‌باشند. در سه رقم محلی شیخی زودرس، قاسم شاهی و علیمراهی اول رس آلل S₁ توسط هر سه آغازگر نشان داده شد. آلل S₁ در شش رقم روئین اسفراین، محلی خرو، کدو سیب اخلمد، اورگنجی خرو، خوشه‌ای خرو و اوقان شیروان با استفاده از دو آغازگر مختلف نشان داده شد. اما در چهار رقم گلاب اصفهان، خوجه تربت، اطلسی و عباسی دراز خرو آلل S₁ فقط یک آغازگر نشان داد. به نظر می‌رسد که بیشتر ارقام ایرانی دارای رابطه خویشاوندی نزدیک با یکدیگرند.

کلمات کلیدی: سیب، آلل S₁، خودناسازگاری، آغازگر

مقدمه

خودناسازگاری یک راه ژنتیکی است که باور شدن گل‌های گیاهان جلوگیری می‌کند. در اکثر گونه‌های گیاهی خودناسازگاری توسط یک مکان ژنی با چند آلل کنترل می‌شود (هوی‌تیک و همکاران، ۲۰۰۸). ناسازگاری در تیره گل سرخ هومومورفیک و از نوع گامتوفیتیک است و به وسیله یک مکان ژنی چند آللی کنترل می‌شود. (کوشش صبا و همکاران، ۱۳۸۷). خودناسازگاری باعث کاهش خودباروری و تشکیل میوه می‌شود. ممکن است ارقام مختلف آلل‌های خودناسازگاری مشابه داشته باشند که باعث دگرناسازگاری بین ارقام شود. لونگ و همکاران (۲۰۱۰) سه نوع آلل جدید را در ارقام سیب شناسایی کردند. هم‌چنین آنها این آلل‌ها را برای اولین بار در ارقام بینزی و سولاردکرب مشخص کردند. مزیت روش‌های مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلی مرز 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 میوه کاری 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. این پژوهش بر روی ۱۸ رقم سیب ایرانی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش بر روی ۱۸ نمونه سیب ایرانی (محلی شیخی زودرس، گلاب اصفهان گلاب نوری مراغه، خوجه تربت، اطلسی، وسط رسی قرمز، عباسی دراز خرو، شعلی اخلمد، عباسی گرد خرو، قاسم شاهی، گلمکانی، کدوسیب اخلمد، اورگنجی خرو، خوشه‌ای خرو، روئین اسفراین، محلی خرو، اوقان شیروان و علیمراهی اول رس) صورت گرفت. نمونه‌ها برگ در مرداد و شهریور ماه ۸۹ از مرکز تحقیقات طرق مشهد جمع‌آوری و با ازت مایع به آزمایشگاه منتقل و سپس در یخچال ۸۰- تا موقع شروع آزمایشات نگهداری شدند. استخراج دی.ان.ا با کمی تغییر به روش دوپل دوپل صورت گرفت. تکثیر دی.ان.ا با استفاده از ۳ جفت آغازگر اختصاصی (جدول ۱) SSR به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز برای مشخص شدن آلل S₁ انجام گرفت.

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده برای تعیین آلل S₁

آلل	آغازگر	توالی ۳-۵"	اندازه باندها	دمای اتصال
S1	MdS1SpF MdS1SpR	TGTAAGGCACCGCCATATCATA CAACCTCAACCAATTCAGTCAATGA	734	62
S1	FTC168 FTC169	ATATTGTAAGGCACCGCCATATCAT GGTTCTGTATTGGGGAAGACGCACAA	+/-530	61
S1	FS1 FA1	CAATCGAAACGATCATGAAG TCCGTGTATAGGCCATCGAC	493	62

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. به علت تشکیل دایمر در محصولات PCR افزایش دما اتصال به میزان ۲ درجه سانتی‌گراد برای هر جفت آغازگر انجام شد.

نتایج و بحث

در این آزمایش از سه جفت آغازگر برای شناسایی آلل خودناسازگاری S₁ در ۱۸ رقم سیب ایرانی استفاده شد. برخی از این رقم‌ها هیچ باند تشکیل نشد و یا باندهای غیر تخصصی تکثیر شدند. آغازگر MdS1SpF در ۹ رقم، آغازگر FS1 در ۱۲ رقم و آغازگر FTC168 در ۴ رقم باند تشکیل دادند. ۳ رقم در بین هر سه آغازگر مشترک است و در بین آغازگر FS1 و FTC168 در ۹ رقم اشتراک دارند و آغازگر FS1 و FTC168 در ۳ رقم با هم مشترک هستند (جدول ۲).

جدول ۲- تعیین آلل S₁ در ارقام ایرانی

FS1	FTC168	MdS1SpF		FS1	FTC168	MdS1SpF	
-	-	-	شعلی اخلمد	+	+	+	محلی شیخی زودرس
-	-	-	عباسی گرد خرو	-	+	-	گلاب اصفهان
+	+	+	قاسم شاهی	+	-	-	خوجه تربت
-	-	-	گلمکانی	-	-	-	گلاب نوری مراغه
+	-	+	کدوسیب اخلمد	+	-	-	اطلسی
+	-	+	اوگنجی خرو	-	-	-	وسط رسی قرمز
+	-	+	خوشه‌ای خرو	+	-	-	عباسی دراز خرو
+	+	+	علیمراهی اول رس	+	-	+	روئین اسفراین
+	-	+	اوقان شیروان	+	-	+	محلی خرو

+ وجود آلل S₁ در ارقام، - عدم وجود آلل S₁

اندازه باندهای تولیدی (Mds1SpF اندازه باند 734، FTC168 اندازه باند 530-/+ و FS1 اندازه باند 493) بین آغازگرها با وجود یکی بودن رقم‌ها کاملاً متفاوت با یکدیگر بودند. وردود و همکاران (۱۹۹۸) اعلام کردن که سطوح نکلوتیدی در توالی S₁ (FTC168) ۹۲ درصد شبیه S₂₀، S₂₄ می‌باشد. کاربرد اصلی آن برای طراحی آلل S₂₄ می‌باشد. با استفاده از آغازگر (FTC168) آلل S₁ در رقم گلاب اصفهان مشخص شد. ارشادی و همکاران (۱۳۸۲) برای تعیین آلل‌های خود ناسازگاری از آغازگر FS1 استفاده کرد. ولی در رقم گلاب اصفهان آلل S₁ مشخص نگردید. میزان فراوانی آلل‌های S₁ در ارقام ایرانی زیاد است که می‌تواند بدلیل روابط خویشاوندی و ژنتیکی بین ارقام می‌باشد. دکتر ارشادی (۱۳۸۲) در بررسی بر روی ۳۲ رقم سیب ایرانی، در ۸ رقم آلل S₁ را شناسایی کرد. برای دستیابی به نتایج بهتر و اطلاعات بیشتر بررسی روابط ژنتیکی و خویشاوندی بین ارقام پیشنهاد می‌شود.

منابع

- ۱- ارشادی، ا. ۱۳۸۲. بررسی کرده افشانی و تشکیل میوه و ارزیابی ارقام سیب ایرانی با استفاده از نشانگر های مولکولی، پایان نامه دکتری دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
- ۲- کوشش صبا، م.، ارزانی، ک. و جلالی جوران، م. ۱۳۸۷. مطالعه آلل‌های ناسازگاری برخی ژنوتیپ های گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) به کمک روش PCR، مجله نهال و بذر: جلد ۲۴ شماره ۳
- 3- Hoytaek, K., Jongin, P., Yutaka, H, and IIIs up, N. 2008. Molecular Characterization of New S-RNases (*S₃₁* and *S₃₂*) in Apple (*Malus x domestica* Borkh.). Journal of Plant Biology 51 (3) : 202-208
- 4- 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
- 5- Verdoordt, L., Van Haute, A., Goderis, IJ, De Witte, K., Keulemans, J., Broothaerts, W. 1998. Use of the multi-allelic self-incompatibility gene in apple to assess homozygosity in shoots obtained through haploid induction. Theor Appl Genet 96:294-300

Determination of S1 allele in some native apple cultivars using three different primers

M. Nasrabadi¹, E. Seifi², S.S. Ramazanpour², M. Sharifani²

1. MSc. Student 2. Academic members, GUASNR, Gorgan, Iran

Email: mojtabanasrabady@ymail.com

ABSTRACT

The present study was conducted on 18 Iranian apple cultivars to determine the S₁ self-incompatibility allele using three different primers. The results showed that 72% of the cultivars (13 out of 18) had S₁ allele. Three cultivars including Mahalli sheikh early ripening, Qasem Shahi and Alimarei-e-avalras showed S₁ allele using all three primers. Six cultivar including Roin Esfarayen, Mahalli-e-kharv, Kadosib-e-akhlamad, Oganji-e-kharv, Khoshei-e-kharv and Oqan-e-shirvan showed to have S₁ allele using two primer. But four cultivars including Golab-e-esfahan, Khojeh Torbat, Atlasi and Abbasi-e-deraze-e-kharv presented the S₁ allele using only one primer. It seems that most of the Iranian cultivars are close to each other genetically.