بررسی روابط سازگاری گرده چند ژنوتیپ حاصل از برنامه اصلاحی بادام با استفاده از آلل های S

شرفی یاور (۱)، محمدی سید ابوالقاسم (۲)، حاجیلو جعفر (۳)، دادپور محمد رضا (۳) و اسکندری سعداله (۴)

۱- عضو هیئت علمی گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه و دانشجوی دوره دکتری دانشگاه تبریز،
۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تبریز، ۳- استادیاران گروه باغبانی دانشگاه تبریز، ۴- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی

بادام یکی از میوه های خشکباری مهم دنیا و ایران است. یکی از مشکلات عمده پرورش بادام در ایران، مشکلات گرده افشانی ارقام و ژنوتیپ های آن می باشد، بنابراین، استفاده از گرده‌زاهای مناسب، جهت باردهی منظم و یکنواخت ضروری است. در نتیجه انتخاب دقیق ارقام سازگار با هم در احداث باغ های بادام، می توان برخی از معضلات تولید این محصول را کاهش داد. دراین بررسی، روابط سازگاری گرده با مادگی در هفت ژنوتیپ جدید حاصل از یک برنامه اصلاحی بادام با استفاده از روش مولکولی مورد مطالعه قرار گرفت. DNA از برگ های جوان استخراج و سپس واکنش PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، انجام شد. الگوی آلل های خودناسازگاری ژنوتیپ های مطالعه شده نشان داد که کلیه ژنوتیپ ها خودناسازگار می باشند ولی بین آنها دگرناسازگاری وجود ندارد. جفت آلل های همه ژنوتیپ ها شناسایی شدند و اختلاف اندازه نوارها امکان شناسایی آلل های خودناسازگاری را فراهم نمود، چون هیچ یک از جفت نوارها در جفت ژنوتیپ ها یکسان نبودند و این موضوع بیانگر سازگاری گرده افشانی ژنوتیپ ها است.

مقدمه

شناخت کافی از روابط سازگاری گرده بین ارقام مختلف درختان میوه یکی از جنبه‌های بسیار مهم در باردهی محسوب می شود و از طرف دیگر آگاهی از چنین اطلاعاتی، در گزینش درختان گرده‌زای مناسب برای ارقام و ژنوتیپ‌های حاصل از برنامه‌های اصلاحی ضروری می‌باشد (۴). خودناسازگاری موجود درارقام مختلف بادام و گونه‌های دیگر جنس *Prunus* از نوع گامتوفیتیک است، که معمولا توسط مکان ژنی چند آللی کنترل می‌شود. برای شناسایی سازگاری بین ارقام و ژنوتیپ‌ها از سه روش گرده‌افشانی کنترل شده درمزرعه ومحاسبه درصد میوه‌بندی، گرده‌افشانی کنترل شده در اتاقک رشد جهت بررسی نفوذ لوله گرده در خامه توسط میکروسکوپ فلورسنت و روشهای مختلف مولکولی استفاده می‌شود (۳ و ۷). گزینش گروه‌های سازگار در بین ارقام مختلف درختان میوه ازطریق شناسایی آلل‌های S با استفاده از روشهای مولکولی به عنوان یک روش جدید، کم هزینه و سریع مطرح بوده که تحت تاثیر شرایط محیطی و سن نونهالی قرار نمی‌گیرد. بطوریکه حتی پس از جوانه زنی و خروج اولین برگها در آزمایشگاه، می‌توان DNA آنها را استخراج کرده و اقدام به شناسایی گروه‌های سازگار، با استفاده از آغازگرهای اختصاصی بر اساس PCR کرد. این روش در گیلاس (۶)، زردآلو (۳)، بادام(۱، ۲، ۴ و ۵) و اکثر درختان میوه دیگر که ناسازگاری در آنها مطرح است به طور موفقیت‌آمیزی کاربردی شده است و آغازگرهای ویژه نیز برای شناسایی جایگاه ژنی آلل‌های S در این گیاهان طراحی و به کار گرفته شده‌اند. هدف از این مطالعه، تعیین روابط سازگاری گرده در هفت ژنوتیپ بادام حاصل از برنامه اصلاحی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی آلل‌های خودناسازگاری بود.

مواد و روش ها

مواد گیاهی شامل ۷ ژنوتیپ دیرگل بادام (D، F، G، K، E، P و Q) بود که از یک برنامه اصلاحی در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند بدست آمده‌اند. DNA ژنومی مواد گیاهی با روش CTAB از برگهای جوان استخراج وکمیت و کیفیت نمونه‌ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز۸. درصد تعیین شد.. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در حجم ۲۰ µl شامل ۲۰ mM Tris-HCl ، ۵۰ mM KCl، ۲/۵ mM $MgCl_2$، ۰/۲ mM از هر یک ازdNTP ها, ۰/۲۵ µ M از هر یک از آغازگرها، ۲۰ ng ازDNA و۱ واحد آنزیمTaq پلی‌مراز انجام شد. برای تکثیرآلل‌های خودناسازگاری ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، جفت آغازگرهای اختصاصی AS1II -AmyC5R، Alsc1- AmyC5R و Pruc4R- Pruc2 استفاده شدند. چرخه‌های حرارتی برای همه جفت آغازگرها شامل یک چرخه ۳ دقیقه‌ای در دمای $95C^o$، ۳۵ چرخه ۶۰ ثانیه‌ای در دمای $94C^o$، ۱ دقیقه در دمای $52C^o$، ۲ دقیقه در دمای $72C^o$ و نهایتا، ۱۰ دقیقه در $72C^o$ بود. به منظور جداسازی فرآورده‌های تکثیری از ژل آگارز ۱,۵٪ استفاده شد. رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید انجام شده و اندازه (جفت باز) نوارهای حاصل، با استفاده از یک نشانگر وزن مولکولی ثابت تعیین گردید.

نتایج و بحث

اندازه نوارهای آلل‌های خودناسازگاری، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با سه جفت آغازگراختصاصی بین۷۵۰-۲۰۰۰ بود. بطوریکه اندازه آلل‌ها در ژنوتیپ D (۱۳۰۰ و ۹۵۰)، F (۱۰۵۰ و ۷۵۰)، G (۱۲۰۰ و ۹۰۰)، K (۱۲۵۰ و ۹۰۰)، E (۲۰۰۰ و ۱۳۰۰)، P (۱۲۰۰ و ۱۰۸۰) و Q (۱۹۰۰ و ۹۵۰) بود و هیچ یک از جفت نوار در جفت ژنوتیپ‌ها یکسان نبودند. این نشان دهنده سازگاری گرده‌افشانی ژنوتیپ‌ها است. درصورتیکه در گرده‌افشانی کنترل شده در مزرعه و آزمایشگاه (داخل اتاقک رشد) نیز اثر مثبت گرده آنها روی همدیگر ثابت شود، می‌توانند بعنوان گرده‌زای مناسب برای همدیگر در احداث باغ بادام بکار روند. بطور کلی نتایج حاصل از این تحقیق عبارت بودند از: ۱- جفت آلل خودناسازگاری همه ژنوتیپ‌ها بطور موفقیت‌آمیز تکثیر شدند. ۲- چون دوآلل هیچ کدام از ژنوتیپ‌ها با هم یکسان نبودند بنابراین، دگرناسازگاری بین هیچکدام از ژنوتیپ‌ها وجود ندارد. ۳- هیچکدام از جفت آغازگرها نتوانستند همه آلل‌ها را در همه ژنوتیپ‌ها تکثیر نمایند ولی با استفاده از سه جفت آغازگر همه آلل‌ها تکثیر شدند. ۴- اختلاف اندازه نوارها، شناسایی آلل‌های خودناسازگاری و در نتیجه گروه‌های سازگار را امکانپذیر ساخت. ۵- جفت آغازگرPruc2 -Pruc4R بیشترین تعداد آلل را در ژنوتیپ‌ها تکثیر کرد. ۶- گرده همه ژنوتیپ‌ها با همدیگر سازگاربوده و می‌توانند بعنوان گرده‌زای مناسب در احداث باغ بادام و یا در برنامه‌های اصلاحی بکار روند. بنابراین، با در نظر گرفتن زمان گلدهی و سایر ویژگیهای مربوط به انتخاب گرده‌زای مناسب می‌توان ارقام گرده‌زای مناسب برای هر یک از ژنوتیپ‌های مورد نظر را انتخاب نمود. سانچز و همکاران (۵) **با استفاده از جفت آغازگرهای** AS1II -AmyC5R، Alsc1- AmyC5R **توانستند آلل های خودناسازگاری را در هشت رقم و نه ژنوتیپ امیدبخش انتخابی بادام تکثیر کنند که اندازه نوارهای آنها ۶۰۰-۲۰۰۰ جفت باز بود. تامورا و همکاران (۷) با استفاده ازجفت آغازگرهای اختصاصی**

AS1II_ AmyC5R، Alsc1_ AmyC5R و Alsd2_ AmyC5R توانستند چهار آلل خودناسازگاری غالب در ارقام کالیفرنیایی بادام یعنی Sa، Sb، Sc و Sd را شناسایی نمایند.

منابع

1- Channuntapipat, C., Sedgly, M., Battle, I., Arus, P. and Collins, G. 2002. Sequence of the genomics DNAs encoding the S2, S9, S10 and S23 alleles from almond, *(Prunus dulcis)*. J. Hort. Sci. Biotech. 77: 387-392.

2- Channuntapipat, C., Sedgly, M. and Collins, G. 2001. Sequence of the cDNAs and genomic DNAs encoding the S1, S7, S8 and Sf alleles from almond, *(Prunus dulcis)*. Theor. Appl. Genet. 103: 1115-1122.

3- Hajilou, J., Grigorian, V., Mohammadi, S. A., Nazemieh, A. Romero, C., Vilanova, S. and Burgos, L. 2006. Self- and cross- (in) compatibility between important apricot cultivars in northwest Iran. Hort. Sci. Biotech. 81: 513-517.

4- Ortega, E., Sutherland, B. G. and Dicenta, F. 2005. Determination of incompatible genotypes in almond using first and second intron consensus primers, detection of new S alleles and correction of reported s genotypes. Plan Breed. 124: 188-196.

5- Sanchez-Perez, R., Dicenta, F. and martinez-Gomez, P. 2004. Identification of S-alleles in almond using multiplex PCR. Euphytica. 138: 263-269.

6- Sonncvald, T., Tobutt, K. R. and Roobbins, T. P. 2003. Allele specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles S1 to S16 using consensus and allele-specific primers. Theor. Apple. Genet. 107: 1059-1070.

7- Tamura, M., Ushijima, K., Sassa, H. and Hirano, H. 2000. Identification of self-incompatibility genotypes of almond by allele- specific PCR analysis. Theor. Appl. Genet. 101: 344-349.

Analysis of pollen compatibility relationships of some almond genotypes obtained from a breeding program using S alleles

Sharafi, Y[1]. Mohammadi, S. A[2]. Hajilou, J[3]. Dadpour, M, R[3]. and Skandari, S[4].
1- Faculty Member, Department of Horticulture, Islamic Azad University of Maragheh and PHD student of University of Tabriz. 2- Associated professor, Department of Agronomy and plant breeding University of Tabriz. 3- Assistant professors, Department of Horticulture, University of Tabriz. 4- East-Azarbaijan Agriculture and Natural Research Center.

Abstract
Almond is one of the most important world and Iran nut crops. One of the main problems of almond growing in Iran is pollination of cultivars and genotypes. Therefore use of compatible and appropriate pollinizer in orchard organization is necessary for production of favorable almond crop. Choosing of compatible cultivars in garden establishment could overcome some of these problems. In the present study compatibility relationships between pollen and ovule of seven new almond genotypes was assessed by molecular method. DNA of genotypes extracted from young leaves and PCR was done by specific primers. Results showed that all of the genotypes are self-incompatible, but inter-incompatibility is not exist between theme; all of the pair of self-incompatibility alleles in all studied genotypes recognized by differences between band sizes and because none of genotypes have not same bands, therefore all genotypes are compatible for pollination each other.