

مطابقت نتایج فنوتایپینگ و ژنوتایپینگ خود (نا) سازگاری در تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های سیب ایرانی

Conformity of Self- (in) Compatibility Phenotyping and Genotyping Results in some Iranian Apple Cultivars and Genotypes

رحیم قره‌شیخ بیات^۱، حسن حاج نجاری^۲، مهین نیازی زینی ونی^۳ و مصطفی مرادی^۴

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
۳ و ۴- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه باغبانی، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۸

چکیده

قره‌شیخ بیات، ر.، حاج نجاری، ح.، نیازی زینی ونی، م. و مرادی، م. ۱۳۹۴. مطابقت نتایج فنوتایپینگ و ژنوتایپینگ خود (نا) سازگاری در تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های سیب ایرانی. *مجله به‌نژادی نهال و بذر* ۱-۳۱: ۴۸۹-۴۷۷.

درختان سیب همانند تعدادی دیگر از میوه‌های تیره گلسرخیان خودناسازگارند. سیستم خودناسازگاری در سیب به وسیله یک مکان ژنی با چند آلل کنترل می‌شود. در این تحقیق نتایج به دست آمده از مطالعه درصد تشکیل میوه پس از خودگرده‌افشانی بر تعدادی رقم و ژنوتیپ بومی سیب در بررسی‌های میدانی (باغ) با نتایج به دست آمده از آزمایش‌های ملکولی که به منظور تعیین آلل‌های S انجام شد، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. استفاده از یک جفت آغازگر عمومی وجود آلل‌های ناسازگاری را در آن‌ها به خوبی نمایش داد. کاربرد هشت جفت آغازگر اختصاصی، به شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در تعدادی از ژنوتیپ‌ها انجامید. نتایج نشان داد ارقام و ژنوتیپ‌ها عموماً دارای آلل‌های S1، S2 و S3 بوده و بین آن‌ها یکی از این آلل‌ها مشترک بود. ارقام ناریسب مشهد و اردبیل ۲ دارای آلل‌های S1، S2، S3 و ژنوتیپ انگلیسی شیراز دارای سه آلل S2، S3، S4 بودند، که احتمال تریپلوئید بودن این ارقام را تقویت می‌کرد. آغازگرهای مورد استفاده در ارقام و ژنوتیپ‌های اردبیل ۱، گلشاهی، شیشه‌ای تبریز، پاییز مشهد، شیخ احمد، مربایی، گلاب کهنز و آی آر آی ۴ هیچ آلل ناسازگاری را نشان ندادند که لازم است در مورد آن‌ها از سایر آغازگرهای اختصاصی نیز استفاده شود. ارقام پاییز مشهد، شیخ احمد، مربایی، آی آر آی ۱ و آی آر آی ۴ در سطح باغ درصد‌های پائینی از خودسازگاری را نشان دادند. در بین این ارقام و ژنوتیپ‌ها، آی آر آی ۶ با داشتن قدرت بالای تشکیل و نگهداری میوه بالاترین درصد خودسازگاری را داشت.

واژه‌های کلیدی: سیب، خودناسازگاری، آلل S، فنوتایپینگ.

مقدمه

سیب گیاهی دگرگشن است که عمدتاً گرده‌افشانی آن توسط حشرات به ویژه زنبور عسل انجام می‌شود. در این گیاه کلانه‌ها، قبل از رسیدن دانه گرده بالغ می‌شوند و به همین دلیل به اصطلاح پروتوژین (Protogyne) هستند و به این ترتیب دگرگشنی در آن‌ها اتفاق می‌افتد (Mirmohammadi Meybodi, 2003). ارقام سیب خودناسازگارند و ناسازگاری آن‌ها از نوع گامتوفیتیک است (Nasrabadi *et al.*, 2011). بنا بر گزارش اشپیگل - روی و آلستون (Spiegel- Roy and Alestone, 1982) خودناسازگاری گامتوفیتیک باعث کاهش خودباروری و تشکیل میوه و همچنین در برخی ارقام باعث تشکیل میوه پارتنوکارپ با کیفیت پایین می‌شود در حالی که برای به دست آوردن یک محصول با کیفیت و عملکرد بالا وجود گرده سازگار ضروری است. با در نظر گرفتن این موضوع تعیین منبع گرده سازگار با ارقام تجاری در باغ‌ها ضروری است. روش‌های متعددی برای تعیین ترکیب‌های تلاقی پذیر تجربه شده‌اند. در هر حال برای اطمینان از نتیجه، تلفیق روش‌های رایج شامل انجام گرده‌افشانی کنترل شده در باغ و محاسبه میوه‌بندی، مطالعات آزمایشگاهی اعم از تعقیب لوله گرده در بافت خامه پس از گرده‌افشانی مصنوعی و نیز شناسایی ترکیب آلل‌های ناسازگاری (S-genotyping) ضروری به نظر

می‌رسد (Halász and Hegedûs, 2006). در این ارتباط شناسایی آلل‌های ناسازگاری از طریق انجام پی سی آر (PCR) می‌تواند در مدت زمان کمتر و با دقت بیشتر کمک کند. در هر صورت اطلاعاتی که به این ترتیب به دست می‌آید در مدیریت باغ در مراحل احداث و ترکیب مناسب ارقام در قطعات، کمک شایان توجهی به باغداران می‌کند و به طور غیر مستقیم باعث کاهش هزینه‌ها در مراحل داشت و برداشت می‌شود. دستیابی به ارقام خودبارده (خودسازگار) دارای اهمیت زیادی برای باغداران و به‌نژادگران است. کاهش تعداد رقم گرده‌زا در واحد سطح و همچنین احداث باغ‌های تک رقمی (Monoclonal orchards) و رفع عوامل بازدارنده تشکیل میوه از جمله شرایط نامناسب آب و هوایی و محدودیت فعالیت حشرات گرده‌افشان، از جمله مزایای ارقام خودسازگار در درختان میوه است (Hegedûs, 2006). به منظور بررسی و شناسایی ارقام خودسازگار و تعیین درصد خودسازگاری تحقیقات گسترده‌ای روی ۹۲ رقم و ژنوتیپ سیب موجود در کلکسیون سیب کشور در یکی از ایستگاه‌های بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در سال‌های ۱۳۸۴ تا ۱۳۸۸ انجام شد (Hajnajari, 2008). شن‌شان و همکاران (Shenshan *et al.*, 2010) در تحقیقی از نوزده جفت آغازگر برای ۱۵۷ رقم سیب استفاده کردند که منجر به شناسایی آلل‌های S1، S2، S3، S4، S5، S7،

S9، S10، S11، S19، S20، S21، S23، S24، S26، S33، S44، S45 و S46 شد. نصرآبادی و همکاران (Nasrabadi *et al.*, 2011) از دوازده جفت آغازگر ویژه برای شناسائی آلل‌های خودناسازگاری در نه رقم سیب ایرانی استفاده کردند. در پنج رقم دو آلل و در چهار رقم یک آلل شناسائی شد و همین‌طور وجود آلل S1 در 18 رقم سیب بومی ایران محرز شد. با توجه به استقبال از استفاده از روش‌های تشخیص مولوکولی خودناسازگاری در گونه‌های درختان میوه و نیز لزوم تفسیر فتوتایپ خودسازگاری در تعدادی از ارقام سیب ایرانی موجود در ایستگاه تحقیقاتی باغبانی کمال‌شهر، و در همین ارتباط بررسی میزان مطابقت داده‌های به دست از آزمایش‌های میدانی که به مدت حداقل دو سال روی ژنوتیپ‌ها و ارقام سیب در باغ تحقیقاتی کمال‌شهر مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شده بود، با نتایج به دست آمده از آزمایش‌های شناسائی آلل‌های خودناسازگاری در ارقام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، این تحقیق انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تعداد بیست و پنج نمونه از ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب ایرانی شامل قره قاچ، عسلی، اردبیل 1، گلشاهی، مشهد، اهر 2، شیشه‌ای تبریز، پاییزه مشهد، شیخ احمد، مربایی، نارسیب مشهد، گلاب اصفهان، زینتی، اردبیل 2، انگلیسی شیراز، گلاب کهنز، آی آر

آی 1، آی آر آی 3، آی آر آی 4، آی آر آی 5، آی آر آی 6، آی آر آی 8، گلدن اسموتی، گلدن دلشیز (شاهد با آلل‌های مشخص خودناسازگاری) و تاپ رد دلشیز مورد آزمایش قرار گرفتند. گزینش ارقام و ژنوتیپ‌های ذکر شده بر اساس نتایج تحقیقات میدانی (باغی) که در کلکسیون ارقام سیب تجارتهی واقع در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌شهر کرج وابسته به مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر با هدف شناسائی ارقام خودسازگار با تعیین سطح یا درصد خودسازگاری آن‌ها طی سال‌های 1383 تا 1390 انجام شده بود (Hajnajari and Moradi, 2013)، به عمل آمد. به منظور تعیین وضعیت خودباروری (خودسازگاری) ارقام مذکور پس از انتخاب درختان در باغ از هر رقم تعداد 6 تا شش تا ده شاخه انتخاب شد و با استفاده از کیسه‌های بی بافت مخصوص، ایزوله شد (خودگرده‌افشانی) و همزمان در هر رقم سه شاخه به عنوان تیمار شاهد با گرده‌افشانی آزاد انتخاب شد. قدرت نگهداری میوه در چهار مرحله بیولوژیک رشدی شامل 1- مرحله تولید گل آذین 2- ده روز پس از پایان گلدهی 3- ریزش خرداد (June drop) 4- مرحله بلوغ فیزیولوژیک رکوردگیری یادداشت‌برداری شده بود (Moradi, 2011).

به منظور تعیین آلل‌های S در نمونه‌های مورد مطالعه و با هدف بررسی همخوانی نتایج تحقیقات فنوتایپینگ انجام شده قبلی اقدام به

گرفتن دمای اختصاصی اتصال آغازگر به صورت ۳۰ چرخه شامل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر به مدت ۳۰ ثانیه، و بسط DNA در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، تنظیم شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۲-۱/۵ درصد، الکتروفورز شده و به کمک دستگاه ژل داگ، الگوی باندهای تکثیر یافته ظاهر شد و در نهایت این نتایج با نتایج تحقیقات میدانی دو ساله مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت. با توجه به میزان اطلاعات به دست آمده نتایج برای تعداد بیست نمونه ارائه می‌شود.

نتایج و بحث

مشخصات جفت آغازگرهای عمومی در جدول ۱ و مشخصات جفت آغازگرهای اختصاصی به کار برده شده در این بررسی در جدول ۲ نشان داده شده‌اند.

ژنوتایپینگ نمونه‌ها از طریق آزمایش‌های واکنش چند زنجیره‌ای (PCR) به کمک آغازگرهای عمومی و اختصاصی سیب شد. به منظور استخراج DNA، نمونه‌های برگ ارقام در بهار ۱۳۹۱ از درختان مورد مطالعه جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل و در داخل فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از روش مبتنی بر CTAB انجام شد. کیفیت و کمیت DNA به وسیله دستگاه الکتروفورز و اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. تکثیر آلل‌های خودناسازگاری با استفاده از آغازگر عمومی به نام FTQQYQ و FI(D/N)CP(H/R) و هشت جفت آغازگر اختصاصی تهیه شده از شرکت تکاپوزیست فرایند و با انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مراس در حجم ۲۵ میکرولیتر با استفاده از کیت‌های Master Mix خریداری شده از شرکت سیناکلون صورت انجام شد. برنامه چرخه حرارتی برای هر آغازگر جداگانه با در نظر

جدول ۱- جفت آغازگر عمومی مورد استفاده در این تحقیق (Shenshan *et al.*, 2010)
Table 1. Consensus primer pair employed in this work (Shenshan *et al.*, 2010)

نام آغازگر Primer	توالی (۳-۵) Sequence (۵-۳)	دمای اتصال Annealing T (°C)
FTQQYQ	TTT-ACG-CAG-CAA-TAT-CAG	48
FI(D/N)CP(H/R)	GYGGGGGCARTYTMTGAA	

داده بود که ارقام گلاب اصفهان (مشاهدات چندساله در باغ)، نارسیب مشهد، گلاب کهنز، زینتی، مربایی، اردبیل ۱، انگلیسی شیراز، آی آر

الف- نتایج تحقیقات میدانی (درصد تشکیل میوه در باغ پس از خودتلقیح): نتایج بررسی‌های میدانی روی ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش نشان

جدول ۲- آغازگرهای اختصاصی خود ناسازگاری سیب استفاده شده در این تحقیق به همراه دمای اتصال اختصاصی (Shenshan *et al.*, 2010)

Table 2. Apple s-alleles specific primer pairs employed in this work and their annealing temperatures (Shenshan *et al.*, 2010)

نام آغازگر Primer	توالی (۳-۵) Sequence (۵-۳)	دمای اتصال Annealing T(°C)
MdS1SpF	TGTAAGGCACCGCCATATCATAAC	62
MdS1SpR	CAACCTCAACCAATTCAGTCAATGA	
MdS2SpF	AACATGAATCGAAGTGAATTATTTA	55
MdS2SpR	TTGAGGTTTGGTTCTTACCATG	
MdS2SpF	GGCGAAAATTAACCGGAGAAGAA	58
MdS3SpR	CCTCTCGTCCTATATATGGAAATCAC	
MdS4SpF	ATTGCAAGACAAGGAATCGTCGGAA	63
MdS4SpR	AGAAATGTGCTCTGTTTTTATCG	
MdS5SpF	GGTCAAACCCACGGCGTCTCA	63
MdS5SpR	ATTCAGTTATCCCATTCCTTCG	
MdS7SpF	AGTAAATCAACCGTGGATGCTCAG	63
MdS7SpR	TTACAATATCTACCTGTTTCCTGGG	
MdS9SpF	CCACTTTAATCCTACTCCTTGTAAGA	63
MdS9SpR	TCAATTTCTTCTGTGTCCTGAATT	
FTC12a	CCAAACGTACTCAATCGAAG	66
MdS10SpR	TCCCGTGTCTGAATCTCCC	

بالاترین میزان خودسازگاری را داشتند (Hajnajari, 2008). سطح بالای خودسازگاری رقم مربائی طی چندین سال موجب شد این رقم به عنوان والد مادری برای تهیه پایه‌های بذری با خلوص ژنتیکی بالا در برنامه به‌نژادی به منظور افزایش میزان یکنواختی در پایه‌های بذری بومی سیب مورد استفاده قرار گیرد.

ب- نتایج آزمایش های ملکولی (مبتنی بر PCR): بررسی های مولکولی تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های امیدبخش سیب ایرانی در این تحقیق با استفاده از نشانگرهای عمومی و اختصاصی انجام شد که منجر به تولید باندهای عمومی و اختصاصی آلل‌های S1، S2، S3 و S4 شد. الگوی باندهای تشکیل شده در مورد برخی نمونه‌های مورد مطالعه در شکل های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ نشان داده شده است. با توجه به

آی ۱ و آی آر آی ۴ با توجه به این که فقط در یک زمان یعنی مرحله تولید گل آذین نمونه برداری شده بودند، با تولید تعداد گل آذین کم، درصد بسیار پایینی از خودسازگاری را نشان دادند و ارقام قره قاچ، عسلی، پایزه مشهد و شیخ احمد با تولید تعداد بالای گل آذین، بالا، قدرت بالای تولید و نگهداری میوه دارای خودسازگاری بالایی بودند. ژنوتیپ آی آر آی ۶ با داشتن درصد تشکیل و نگهداری میوه بالا، بیشترین درجه خودسازگاری را داشت (جدول‌های ۳ و ۴). مطالعات انجام شده بر سطوح خودسازگاری ارقام سیب نشان داد که ارقام پیش گزینش شده خودسازگار طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۹۰ علی‌رغم بیان صفت خودسازگاری، تحت تاثیر تغییرات دما و سال‌آوری بوده‌اند. رقم مربائی، و ژنوتیپ‌های آی آر آی ۱ و ۶ در سال‌های متعدد

جدول ۳- میانگین درصد تشکیل و نگهداری میوه بعد از خود گرده افشانی در مقایسه با دیگر گرده افشانی در چهار مرحله رشدی میوه (T1 تا T4)
 Table 3. Fruit set and maintenance means after self-pollination compared with open pollination at four fruit development stages (T1 to T4)

Cultivars	ارقام	T1		T2		T3		T4	
		خود گرده افشانی Self-pollinated	گرده افشانی آزاد Open pollinated	خود گرده افشانی Self-pollinated	گرده افشانی آزاد Open pollinated	خود گرده افشانی Self-pollinated	گرده افشانی آزاد Open pollinated	خود گرده افشانی Self-pollinated	گرده افشانی آزاد Open pollinated
Ardebil1	اردبیل ۱	9.6a	12.0a	4.03a	13.33a	0.67b	8.33a	0.28b	5.00a
Asali	عسلی	11.0a	15.0a	4.00a	16.00a	1.32b	13.33a	0.73b	12.00a
E.Shiraz	انگلیسی شیراز	1.1a	4.0a	-	-	-	-	-	-
Ghareghach	قره قاچ	6.8a	6.0a	14.32b	20.00a	3.65b	16.67a	1.80b	13.33a
G.Delectious	گلدن دلیشز	1.7b	10.0a	4.13b	20.00a	0.46b	16.00a	0.46b	12.00a
G. Smoothie	گلدن اسموتی	2.2a	6.0a	1.96a	13.33a	1.96a	6.67a	0.78b	6.67a
Golab Isfahan	گلاب اصفهان	4.5b	8.0a	-	-	-	-	-	-
Golab Kohanz	گلاب کهنز	3.6a	12.0a	2.62a	6.67a	-	-	-	-
Golshahi	گلشاهی	7.9b	12.0a	13.66a	16.67a	10.75a	11.67a	0.50b	5.00a
IRI1	آی آر آی ۱	3.8a	5.0a	0.00b	16.00a	-	-	-	-
IRI4	آی آر آی ۴	7.3a	10.0a	14.00a	12.00a	1.20b	8.00a	-	-
IRI6	آی آر آی ۶	9.4a	10.0a	15.57a	16.00a	11.45a	6.00a	6.49a	4.00a
Mashad	مشهد	11.2a	12.0a	14.29a	16.67a	0.33b	3.33a	-	-
Morabbayi	مربابی	21.5b	5.0a	14.60a	19.20a	7.72a	18.00a	4.75b	16.80a
Narsib Mashad	نارسیب مشهد	7.0a	6.0a	13.89a	16.67a	-	-	-	-
Payize Mashad	پایزه مشهد	9.3a	10.0a	12.81b	20.00a	5.73b	18.00a	2.79b	18.00a
Sheikh Ahmad	شیخ احمد	10.0b	18.0a	5.05b	18.89a	2.03b	16.67a	0.95b	4.44a
Shishei Tabriz	شیشه‌ای تبریز	7.7a	12.0a	16.90a	15.00a	5.53a	11.67a	1.39a	5.00a
Top Red Delicious	تاپ رد دلیشز	6.4a	6.0a	17.90a	20.00a	13.95a	16.67a	1.54b	10.00a
Zinati	زینتی	23.6b	6.0a	14.35a	19.00a	4.62b	16.33a	2.73b	14.67a

T1: Inflorescence production

T2: Fruit set percentage 2 weeks after F.B.

T3: June drop

T4: Percentage of fruit maintenance 2 weeks before harvesting

T1: درصد تولید گل آذین

T2: مرحله دوم میوه بندی دو هفته پس از تمام گل

T3: درصد نگهداری میوه پس از ریزش خرداد

T4: دو هفته قبل از رسیدن کامل

جدول ۴- فنوتیپ خود(نا)سازگاری و ترکیب آلل‌ها در ارقام و ژنوتیپ‌های سیب به همراه درصد میوه‌بندی پس از خودتلقیحی

Table 4. Phenotyping results and S-allele genotypes of cultivars and genotypes of apple

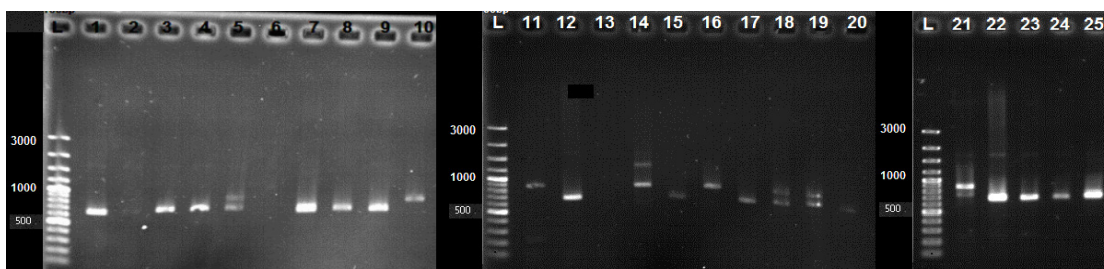
Cultivar	رقم	درصد	فنوتیپ		ژنوتیپ S
		نگهداری میوه Fruit set%	خودسازگار/خودناسازگار Phenotype: SI/SC/Partially SC	خودسازگار/خودناسازگار	S-genotype
Ghareghach	قره قاج	0-2	SI	خودناسازگار	S2S3
Asali	علی	0-2	Partially SC	خودسازگار پایین	S3S?
Ardebil 1	اردبیل ۱	0-2	SI	خودناسازگار	دارد عمومی باند
Golshahi	گلشاهی	0-2	SI	خودناسازگار	دارد عمومی باند
Mashad	مشهد	0-2	SI	خودناسازگار	S1S?
Shishei Tabriz	شیشه‌ای تبریز	0-2	SI	خودناسازگار	دارد عمومی باند
Payize Mashad	پایزه مشهد	2-4	Partially SC	خودسازگاری پائین	دارد عمومی باند
Sheikh Ahmad	شیخ احمد	0-2	Partially SC	خودسازگاری پایین	دارد عمومی باند
Morabbayi	مریابی	6-8	SC	خودسازگار	دارد عمومی باند
Narsib Mashad	نارسیب مشهد	0-2	SI	خودناسازگار	S1S2S3
Golab Isfahan	گلاب اصفهان	-	SI	خودناسازگار	S2S3
Zinati	زینتی	2	SI	خودناسازگار	S2S3
E. Shiraz	انگلیسی شیراز	0-2	SI	خودناسازگار	S2S3S4
Golab Kohanz	گلاب کهنز	0-2	SI	خودناسازگار	دارد عمومی باند
IR11	آی آر آی ۱	2	Partially SC	خودسازگاری پائین	S2S3
IR14	آی آر آی ۴	3	Partially SC	خودسازگاری پائین	دارد عمومی باند
IR16	آی آر آی ۶	6	SC	خودسازگار	S3S?
G. Smoothie	گلدن اسموتی	0-2	SI	خودناسازگار	باند بدون
G. Delectious	گلدن دلیشز	0-2	SI	خودناسازگار	S2S3
Top Red Delicious	تاب رد دلیشز	0-2	SI	خودناسازگار	باند بدون

آن‌ها رخ نداده بود. این نتایج عدم کارآئی حداقل یکی از آلل‌های ناسازگاری را نشان می‌دهد.

ارزیابی و شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در ارقام و ژنوتیپ‌های درختان میوه برای برنامه‌های به‌نژادی یک پیش‌نیاز است و نیز در احداث باغ با هدف کاهش تعداد رقم‌های گرده‌افشان در واحد سطح و افزایش عملکرد نقش مهمی ایفاء می‌کند. این مسئله مخصوصاً در مدیریت باغ، احداث باغ‌های تک رقمی و انتخاب ارقام مناسب بسیار مفید است. با در نظر گرفتن این موضوع که

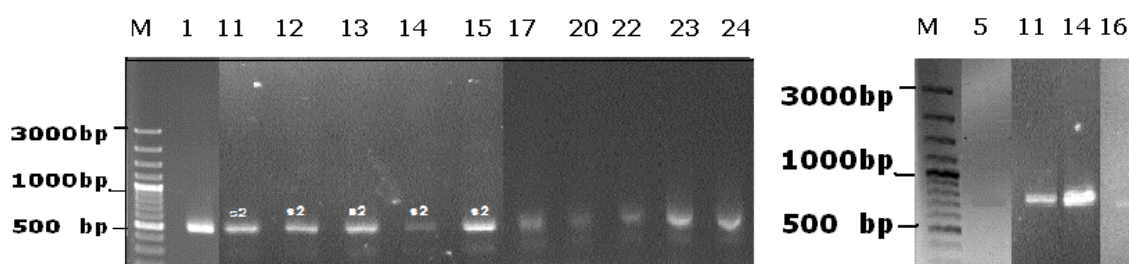
نتایج به دست آمده، تشکیل میوه را در ارقام و ژنوتیپ‌هایی که علی‌رغم داشتن آلل‌های ناسازگاری دارای فنوتیپ خودسازگاری هستند بایستی به سایر فاکتورها مرتبط دانست. از جمله این عوامل، نقص در مکانیزم سیستم خودناسازگاری و عدم ایفاء نقش آلل‌های ژن *S-RNase*، همچنین عوامل آب و هوایی و جهش‌های ژنی می‌تواند نام برده شود.

ماتسوموتو و همکاران (Matsumoto *et al.*, 1999a) ژنوتیپ سیب رقم Megumi خودگشن را S2 S9 شناسایی کردند در حالی که هیچ موتاسیونی در ژن‌های S



شکل ۱- الگوی به دست آمده برای آغازگر عمومی FTQQYQ و FI(D/N)CP(H/R) برای برخی ژنوتیپ‌های سیب

Fig. 1. Electrophoresis pattern of S-alleles obtained by FTQQYQ and FI(D/N)CP(H/R) primer pair for some apple genotypes

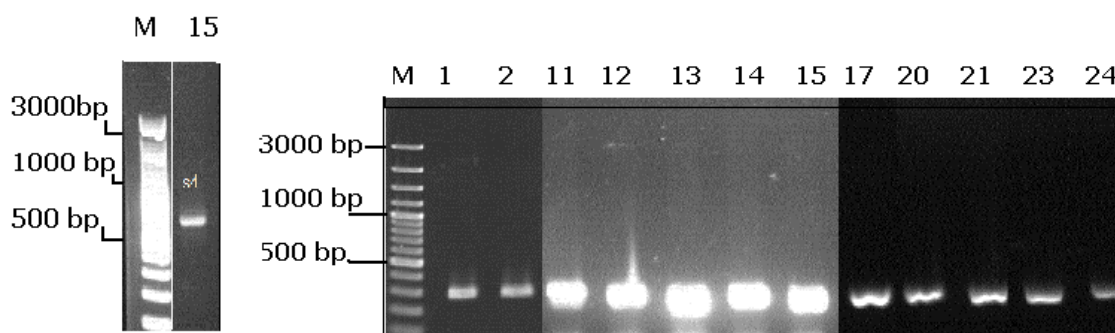


شکل ۳- باند اختصاصی آلل S2 روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برای تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های سیب

Fig. 3. S2-allele specific band on agarose gel 1.5% for some cultivars and genotypes of apple

شکل ۲- باند اختصاصی آلل S1 روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برای تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های سیب

Fig. 2. S1-allele specific band on agarose gel 1.5% for some cultivars and genotypes of apple



شکل ۵- باند اختصاصی آلل S4 روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برای تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های سیب

Fig. 5. S4-allele specific bands on agarose gel 1.5% for some cultivars and genotypes of apple

شکل ۴- باند اختصاصی آلل S3 روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برای تعدادی از ارقام و ژنوتیپ‌های سیب

Fig. 4. S3-allele specific band on agarose gel 1.5% for some cultivars and genotypes of apple

پارتنوکاری در ارقام سیب اتفاق می افتد و بدون گرده افشانی میوه قابل قبولی نیز ممکن است تشکیل شود، لذا در مطالعات انجام شده، وضعیت تولید بذر نیز مورد توجه بود. در این ارتباط به منظور قضاوت صحیح در مورد روی دادن تلقیح که پس از رشد لوله گرده و رسیدن آن به تخمدان و آزاد شدن گامت های جنسی نر و ترکیب آن با سلول تخمک امکان پذیر است، لازم بود تا تخمدان و بذرها تشکیل شده به دقت معاینه شوند و از وجود بخش های بذر و خصوصاً جنین اطمینان حاصل شود.

در این تحقیق با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مندرج در جدول ۲ تعدادی از آلل های خود (نا) سازگار شناسائی شد. این آلل ها بنابر گزارش های موجود بیشترین فراوانی را در بین آلل های سیب دارا هستند (Shenshan *et al.*, 2010). با در نظر گرفتن وجود آلل های مشترک در بین ارقام/ژنوتیپ های مورد بررسی در این تحقیق و احتمالاً سایر ارقام/ژنوتیپ های بومی موضوع تلاقی پذیر بودن آنها و یا نیمه سازگار بودن آنها ناشی از مکانیسم تعریف شده ناسازگاری گامتوفیتیک حائز اهمیت است و در انجام دورگ گیری ها ضرورتاً باید مورد توجه قرار گیرد. از آغازگرهای مورد استفاده باندهای اختصاصی آلل های S1، S2، S3 و S4 تشکیل شدند. فراوانی آلل های S2 و S3 در بین ژنوتیپ های مورد مطالعه قابل توجه بود. هیچ باند اختصاصی برای آلل های S5، S7، S9 و

S10 مشاهده نشد.

البته با توجه به الگوی به دست آمده از الکتروفورز محصولات PCR با استفاده از جفت آغازگر عمومی (شکل ۱) تشکیل باندهای مربوط به آلل های ناسازگاری محرز است که لازم است با کاربرد سایر آغازگرهای اختصاصی نسبت به شناسائی آنها اقدام شود یا با توالی یابی باندهای حاصل از کاربرد آغازگر عمومی و تعیین میزان تشابه آنها با نمونه های ودیعه گذاشته شده در بانک های اطلاعاتی بین المللی شماره آلل ها را مشخص کرد.

در ژنوتیپ های تاپ رد دلشز، گلدن اسموتی، آی آر آی ۳ و اهر ۲ هیچ باندهای تشکیل نشد (از جدول های ۳ و ۴ حذف شدند). ژنوتیپ اردبیل ۲ دارای آلل های S1، S2 و S3 گزارش می شود (در جدول های ۴ و ۳ آورده نشده است). در بیشتر موارد معاینه بذرها نیز انجام شد (شکل ۶). بذرها سالم و پوک و چروکیده شمارش شدند و با توجه به این که سازگاری کامل آمیزشی بایستی منجر به تولید جنین سالم و بذر کامل شود این موضوع نیز در قضاوت ها مورد ملاحظه قرار گرفتند. هگدوس (Hegedus, 2006) گزارش کرد تاکنون هیچ رقمی که به طور کامل خودسازگار باشد برای سیب شناخته نشده است. در مواردی که تناقض در ژنوتیپ و رفتار فنوتیپی ارقام دیده می شود بایستی به سایر عوامل و فاکتورهای دخیل در باروری گل های سیب توجه داشت. پلی پلوئیدی می تواند در هم شکننده خودناسازگاری



شکل ۶- معاینات مربوط به تخمدان و وضعیت برچه‌ها در میوه‌های تشکیل شده و نیز کمیت و کیفیت تشکیل بذر پس از خودتلقیحی گل‌ها در تعدادی از ارقام (عکس از حسن حاج‌نجاری)
 Fig. 6. Inspection of carpel and seed situation in fruits obtained from self-pollinated flowers (Photo: H. Hajnajari)

سال دیگر نوسان دارد (Soltesz, 1997). انتظار می‌رود در نمونه‌های گیاهی خودناسازگار تلقیح با دانه‌گرده خودی منجر به تشکیل بذر و متعاقباً تولید جنین سالم نشود.

در نمونه‌های سیب مورد مطالعه در این تحقیق، ارقام مورد مطالعه بذر هر چند با درصد بسیار کم تولید کردند. در مورد رقم مربائی (شکل ۶) که بیشتر ارزش پایه بذری را در

در گیاهان باشد که با اصطلاح Self-incompatibility breakdown در منابع ذکر می‌شود (Nasrallah et al., 2007). تحقیق در مجارستان روی رقم سیب نشان داد که گرایش رقم به خودگشنی متأثر از سن درخت و اثر سال است. وجود یک تا سه درصد خودسازگاری موجب افزایش عملکرد است و درصد میوه‌بندی ارقام خودسازگار از سالی به

باغبانی دارد، این موضوع قابل توجه بود به گونه‌ای که پس از سلفینگ تولید بذر بدون مشکل در تمامی برچه‌ها به طور کامل مشاهده شد و درصد سبز کرد بذرها حاصل نیز خوب گزارش شده است. در خصوص صفت خودسازگاری سیب بایستی در نظر داشت که این موضوع از مدت‌ها پیش مورد توجه محققین بوده و در این ارتباط مطالعات زیادی انجام شده است. با در نظر گرفتن امکان تولید میوه به صورت پارتنوکاری در سیب مطالعات میزان تشکیل میوه ناشی از خودگرده‌افشانی در بعضی موارد می‌تواند گمراه کننده باشد. ارقام خودسازگار سیب به طور کلی تاکنون شناخته نشده‌اند. با این حال در مورد ارقام خودسازگار سیب نیز دگرگرده‌افشانی توصیه می‌شود تا باردیکی یکنواختی در مورد آن‌ها اتفاق بیفتد. در مورد رقم مگومی که یک رقم خودسازگار معرفی شده است (Matsumoto *et al.*, 1999b)، در حالت خودگرده‌افشانی میزان تشکیل میوه و متوسط تعداد بذر در هر میوه به ترتیب برابر ۸۸-۲۴ درصد و ۴/۲ در منابع ذکر شده است. سایتو و همکاران (Saito *et al.*, 2007) وضعیت تشکیل میوه و نیز بدر را در سه رقم سیب ظاهراً خودسازگار پس از خودگرده‌افشانی بررسی کردند. نتایج تحقیقات آن‌ها که به دنبال چهار سال مطالعه بر روی ارقام مگومی، اورین و فوجی استوار است، درجات متفاوتی از خودسازگاری را در بین ارقام مورد مطالعه

نشان داد. در مورد رقم فوجی خودگرده‌افشانی با استفاده از دانه گرده طبیعی و نیز دانه گرده پرتوتابی شده مورد آزمایش قرار گرفت و البته تفاوتی از نظر نوع دانه گرده مورد استفاده در فروت ست دیده نشد. با این حال میزان تشکیل میوه در این چهار سال برای رقم فوجی پس از خودگرده‌افشانی از صفر تا ۴/۵ درصد متغیر بود. در عوض برای ارقام مگومی و اورین این دامنه یک بار ۴۸-۴۰ درصد و بار دیگر ۱۶/۳ تا ۳۸ درصد به دست آمد. میوه‌های به دست آمده برای رقم مگومی پس از خودسازگاری دارای بذر بودند ولی تعداد زیادی از میوه‌های به دست آمده برای رقم اورین فاقد بذر گزارش شدند. در همین ارتباط آزمایشی بر روی رقم اورین انجام شد که طی آن میزان فروت ست برای دو حالت دگرگرده‌افشانی و عدم گرده‌افشانی مطالعه شد و نتیجه گرفتند که این رقم تمایل به تولید میوه‌های پاراتنوکارپ دارد. در مقایسه دو رقم فوجی و مگومی محققین مذکور دریافتند که میزان فروت ست در رقم فوجی به مراتب کمتر است. ضمناً گیاهچه‌های حاصل از بذرها به دست آمده از خودگرده‌افشانی در ارقام مورد مطالعه که در شرایط گلخانه‌ای نگهداری می‌شوند، فنوتیپ طبیعی ندارند.

کاتو و همکاران (Katoh *et al.*, 2000) گزارش کرده‌اند که آلل‌های موجود در رقم مگومی که یک رقم خودسازگار سیب معرفی شده است، یکی شبیه آلل *Sc-RNase* موجود در رقم استارکینگ دلپزش است و دیگری شبیه

آلل *Sa-RNase* موجود در رقم گلدن دلشیز است (با تفاوت در یک باز). همین‌طور نتایج بررسی‌های نام‌بردگان نشان می‌دهد مقدار آنزیم *S-RNase* موجود در بافت خامه رقم مگومی به‌طور چشمگیری کم است که می‌تواند مسبب رفتار خودسازگاری در این رقم باشد. با توجه به اطلاعات به دست آمده از این تحقیق و نیز بررسی منابع می‌توان گفت که استفاده از روش‌های مبتنی بر PCR برای تعیین آلل‌های ناسازگاری بیشتر در معرفی ترکیب‌های سازگار کرده‌افشانی و تلقیح کاربرد دارد تا در تفسیر درجات خودناسازگاری ارقام سیب، که در شرایط اقلیمی و نیز سال‌های مختلف می‌تواند متفاوت گزارش شود.

References

- Hajnajari, H. 2008.** Identification of self-compatible cultivars in apple collection (Abstract), Proceedings of the 10th Iranian Genetic Congress, Razi Congress Center, Tehran, Iran (in Persian).
- Hajnajari, H., and Moradi, M. 2013.** Evaluation of self compatibility, pomology, Inbreeding pressure and introducing an auto-fertile apple genotype IRI6. Iranian Journal of Horticultural Sciences 45 (2): 163-174 (in Persian).
- Halász, J., and Hegedûs, A. 2006.** A critical evaluation of methods used for S-genotyping: from trees to DNA level. International Journal of Horticultural Science 12 (2): 19-29.
- Hegedûs, A. 2006.** Review of the self-incompatibility in apple (*Malus domestica* Brokh., syn.: *Malus pumila* Mill.). Horticultural Science 12(2): 31-36.
- Kato, N., Goto, K., Asono, J., Fukushima, K., Yamada, K., Kassi, A., Li, T. Z., Takanoha, M., Miyairi, K., and Okuno, T. 2002.** S-RNases from self-incompatible and compatible apple cultivars: purification, cloning, enzymic properties, and pollen tube growth inhibitory activity. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 66 (6): 1185-1195.
- Matsumoto, S., Kitahara, K., S. Komori, and J. Socjima. 1999a.** A new S-allele in apple 'Sg' and its similarity to the 'Sf' allele from Fuji. HortSciencie 34: 708-710.
- Matsumoto, S., Kitahara, K., Komori, S., and Socjima, J. 1999b.** S-genotypes of 15 apple cultivars and self-compatibility of Megumi, Journal of the Japanese Society for

Horticultural Science 68 (2): 236-241.

Mirmohammadi Meybodi, A. 2003. Plant Breeding (in Horticulture). University of Isfahan Publications, Isfahan, Iran (in Persian).

Moradi, M., 2011. Determination of self compatibility level in selected apple cultivars and comparative pomological investigations of fruit characteristics. MSc. Thesis, College of Agriculture and Natural Resources, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran (in Persian).

Nasrabadi, M., Seyfi, A., Ramazanpour S., and Sharifani, M. 2011. Determination of self-incompatibility alleles in Iranian and exotic apples. Proceedings of the 7th Iranian Horticultural Science Congress, 5-8 September, Isfahan, Iran.

Nasrallah, J. B., Pei L., Sherman-Broyles, S., Schmidt, R., and Nasrallah, M. E. 2007. Epigenetic mechanisms for breakdown of self-incompatibility in interspecific hybrids. Genetics 175 (4): 1965-1973.

Satio, A., Tomoko Fukasawa, A., Megumi, I., Sato, T., and Masahiko, S. 2007. Self-compatibility of 3 Apple cultivars and identification of S-allele genotypes in their self-pollinated progenies. Horticultural Research (Japan) 6 (1): 27-32.