

مطالعه آلل‌های ناسازگاری برخی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) به کمک روش PCR

Study of Incompatibility S Alleles in some Asian Pear
(*Pyrus serotina* Rehd.) Genotypes by PCR Technique

محمود کوشش صبا^۱، کاظم ارزانی^۲ و مختار جلالی جواران^۲

۱- دانشجوی سابق دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- به ترتیب دانشیار و استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۷/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۰/۲۷

چکیده

کوشش صبا، م.، ارزانی، ک.، و جلالی جواران، م. ۱۳۸۷. مطالعه آلل‌های ناسازگاری برخی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) به کمک روش PCR. نهال و بذر ۲۴: ۴۴۵-۴۴۵.

یکی از عوامل ژنتیکی مهم که میوه‌دهی گلابی آسیایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد ناسازگاری بوده است. به منظور بررسی آلل‌های ناسازگاری در تعدادی از ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی، این آزمایش انجام شد. برای این منظور دی.ان.ای (DNA) ژنومی نه ژنوتیپ گلابی آسیایی (KS_6 ، KS_7 ، KS_8 ، KS_9 ، KS_{10} ، KS_{11} ، KS_{12} ، KS_{13} و KS_{14}) و دو هیبرید بین آن‌ها از برگ‌های جوان جداسازی شد و از آن‌ها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی، جهت تکثیر آلل‌های ناسازگاری استفاده شد. نتایج نشان داد که آغازگرهای مورد نظر توانستند آلل‌های ناسازگاری را در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تکثیر کنند. آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های KS_6 ، KS_7 ، KS_8 ، KS_9 ، KS_{10} ، KS_{11} و KS_{12} یک جفت از آلل‌های S_1 یا S_3 تا S_7 بودند و یک آلل ناسازگاری ژنوتیپ‌های KS_{13} و KS_{14} و S_2 و آلل دیگر آن S_1 یا S_3 تا S_7 تعیین شد. روش PCR برای تعیین وضعیت ناسازگاری سریع‌تر و راحت‌تر از سایر روش‌ها است که تحت تاثیر عوامل مرتبط با گرده‌افشانی قرار نمی‌گیرد.

کلمات کلیدی: گلابی آسیایی، *Pyrus serotina* Rehd.، ناسازگاری گرده، نشاتگر مولکولی، آلل‌های ناسازگاری.

مقدمه

گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) بخش مهمی از گلابی‌های دنیا را تشکیل می‌دهد (Nee *et al.*, 2002) از نام‌های متداول آن گلابی چینی و ژاپنی است. گلابی‌های آسیایی باردهی خوبی دارند و میوه‌های آن دارای بافت ترد و سفت است و عمر انباری بالایی دارند. میوه‌های آن آبدار هستند و رنگ پوست از زرد تا قرمز متمایل به قهوه‌ای در آن‌ها دیده می‌شود (Arzani, 2002). به خاطر این خصوصیات امروزه در دنیا به این محصول توجه زیادی می‌شود و تقاضا برای این میوه، رو به افزایش است. در ایران با توجه به توانائی‌های موجود در بخش میوه‌کاری، به منظور ارزیابی بعضی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی در شرایط مختلف آب و هوایی ایران، در قالب طرح ملی گلابی، چند رقم از کشور بلژیک وارد ایران شده و آزمایش‌هایی روی آنها در حال انجام است (Arzani, 2002).

میوه‌دهی گلابی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار دارد. یک عامل ژنتیکی مهم، خودناسازگاری است که در آن درخت قادر به باروری با گرده خود نمی‌باشد (Haring *et al.*, 1990). ناسازگاری در تیره گل سرخ هومومورفیک و از نوع گامتوفیتیک است و به وسیله یک مکان ژنی چند آلی کنترل می‌شود. مکان ژنی کنترل‌کننده ناسازگاری (S) خودناسازگاری و دگر ناسازگاری را کنترل می‌کند.

(De Nettancourt, 1997). بیان و ظهور ناسازگاری در گلابی آسیایی نه تنها با شرایط محیطی بلکه به حالت‌های فیزیولوژیک گیاه بستگی دارد (Hiratsuka and Zhang, 2002). تفاوت ارقام گلابی در میوه‌دهی بعد از خود گرده‌افشانی به وسیله محققین زیادی گزارش شده است. برای تعیین خودناسازگاری و دگرناسازگاری روش‌های مختلفی وجود دارد، از جمله این روش‌ها می‌توان به ارزیابی تعداد میوه تشکیل شده، بررسی رشد لوله گرده در تخمدان (Koushesh Saba *et al.*, 2006)، روش‌های مولکولی مانند شناسایی آلل‌های مربوط به ناسازگاری (Sassa *et al.*, 1994; Ishimizu *et al.*, 1999) و روش‌های بیوشیمیایی مانند تجزیه گلیکوپروتئین‌های خامه (SRNase) اشاره کرد (Tomimoto *et al.*, 1996)؛ شناسایی آلل‌های S بسیار مفید بوده و یک روش مفید را برای انتخاب صحیح گرده‌دهنده و ژنوتیپ‌های مادری در برنامه اصلاحی فراهم آورده است. این روش در مشخص کردن شجره‌نامه و منشأ بعضی ژنوتیپ‌ها نیز مفید است (Tehrani and Lay, 1988). آلل‌های S و گروه‌های ناسازگاری تعدادی از درختان میوه مانند گیلاس (Wiersma *et al.*, 2001)، بادام (Tamura *et al.*, 2000)، سیب (Janssens *et al.*, 1995)، گلابی آسیایی

پدري و هيريد ۲ حاصل تلاقي ژنوتپ‌هاي KS₁₃ به عنوان پايه مادري و KS₁₁ به عنوان پايه پدري بود. به منظور استخراج دي.ان.اي (DNA) ژنومي از رقم‌هاي مذکور، نمونه‌هايي از برگ‌هاي جوان آنها تهيه و در کمترین زمان ممکن به آزمايشگاه منتقل شد و بلافاصله با نيترژن مایع منجمد شدند. با توجه به اين که برگ‌هاي گلابي داراي مقادير زيادي پلي ساکاريدها و مواد فنلي هستند، براي استخراج دي.ان.اي مطلقاً از روش CTAB (Doyle and Doyle, 1990) با کمی تغييرات استفاده شد و کيفيت و کميته دي.ان.اي استخراجي با روش الکتروفورز در ژل آگارز و دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی شد. براي بررسی آلل‌هاي ناسازگاري، روش مولکولي پي.سي.آر با استفاده از آغازگرهاي اختصاصي طراحی شده براي آلل‌هاي ناسازگاري به کار گرفته شد. انتخاب آغازگرها با استفاده از مطالعه روي توالي‌هاي گزارش شده براي آلل‌هاي ناسازگاري در منابع و بانک ژن (pubmed.com) و نيز آغازگرهايي که تاکنون در موارد مشابه به کار برده شده (Castillo et al., 2002; Kim et al., 2002) و کنترل صحت توالي آنها با نرم افزار Gene runner انجام شد. در نهايت سه جفت آغازگر اختصاصي زير جهت تکثير آلل‌هاي ناسازگاري مورداستفاده قرار گرفت (در هر کدام از جفت پرايمرهاي اشاره شده، پرايمر اول پيش رو و

Ishimizu et al., 1999) و زردآلو (Burgos et al., 1998) به وسيله روش‌هاي تلاقي و اخيراً با استفاده از روش‌هاي مولکولي گزارش شده است. مزيت روش‌هاي مولکولي مبتني بر واکنش زنجيره‌اي پلي-مراز (Polymerase chain reaction: PCR) در آن است که به درخت بالغ و گل براي تعيين ناسازگاري نيازي نيست و با مقدار کمی از بافت گياهي می‌توان آلل‌هاي ناسازگاري را در ژنوتپ مورد مطالعه تعيين کرد.

امروزه در دنيا در بخش ميوه‌کاري تحقيق روي پايين آوردن هزينه توليد است. با توجه به اين که ارقام خودناسازگار براي توليد مطلوب نياز به دگرگرده افشاني دارند، عدم اطلاع از اين موضوع و کشت باغ از يک رقم باعث ميوه‌دهي ضعيف می‌شود. پژوهش حاضر به منظور بررسی و تعيين آلل‌هاي ناسازگاري بر روي بعضی از ارقام گلابي آسيابي انجام شد.

مواد و روش‌ها

اين آزمايش در دانشکده کشاورزي و آزمايشگاه گروه بيوتکنولوژي دانشگاه تربيت مدرس انجام شد. در اين پژوهش از پايه‌هاي مادري گلابي آسيابي که در سال ۱۹۹۸ توسط گروه باغباني دانشگاه تربيت مدرس (طرح ملي شماره ۴۲۲۵) از کشور بلژيک وارد کشور شد (Arzani, 2002) و دو رقم هيريد بين آنها استفاده شد. هيريد ۱ حاصل تلاقي ژنوتپ‌هاي KS₁₃ به عنوان پايه مادري و KS₈ به عنوان پايه

دومی معکوس است).

A: 5'-CAATTTACGCAGCAATATCAG-3':

و: 5'-CTTTTGGCACTTGAATTTTGG-3'

C: 5'-TTTACGCAGCAATATCAG-3'

D: 5'-ACATTCGGCCAAATAATT-3' و

E: 5'-TGCCTCGCTCTTGAACAAA-3'

و F: 5'-ACATTCGGCCAAATAATT-3'

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس در حجم ۲۵ میکرولیتر با اجزای ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰ برابر، ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط نوکلئوتیدی، ۰/۵ میکرومولار آغازگر، ۱۰ نانوگرم دی.ان.ای الگو، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تک دی.ان.ای پلی‌مراس ۵ واحدی و آب مقطر انجام شد. برای جلوگیری از تکثیر غیر اختصاصی علاوه بر آلل‌های مورد نظر، دماهای اتصال مختلف مورد استفاده قرار گرفت و در نهایت برنامه تکثیر شامل واسرشته‌سازی اولیه دی.ان.ای ژنومی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۰ چرخه شامل واسرشته‌سازی دی.ان.ای ژنومی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال آغازگر به رشته الگو در ۵۵/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱/۵ دقیقه، بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه به کار گرفته شد. محصولات تکثیری با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید. برای رنگ‌آمیزی ژل از محلول اتیدیوم بروماید استفاده شد و مشاهده ژل و عکس‌برداری از آن

با دستگاه ژل داک و با استفاده از نور ماوراء بنفش انجام شد.

نتایج و بحث

در آزمایش اول از آغازگر A به عنوان پیش‌رو و از آغازگر B به عنوان معکوس استفاده شد. این جفت آغازگرها توانستند ژن خودناسازگاری تمامی ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه را تکثیر کنند (شکل ۱). در ژنوتیپ‌های KS6، KS7، KS8، KS9، KS10، KS11 و KS12 قطعه‌ای بین ۷۰۰-۶۰۰ جفت باز و در ارقام KS13، KS14، هیبرید ۱ و هیبرید ۲ علاوه بر قطعه اول، قطعه دیگر با اندازه ۱۶۰۰ جفت باز تشکیل شد (شکل ۱ و جدول ۱).

جفت آغازگر C به عنوان پیش‌رو و D به عنوان معکوس آلل‌های ناسازگاری را در ژنوتیپ‌های گلابی مورد مطالعه تکثیر کردند (شکل ۲). در ارقام KS6، KS7، KS9، KS10، KS11 و KS12 قطعه‌ای بین ۴۰۰-۳۰۰ جفت باز در KS8 دو قطعه بسیار نزدیک به هم بین ۴۰۰-۳۰۰ جفت باز و در ژنوتیپ‌های KS13، KS14، هیبرید ۱ و هیبرید ۲ هر کدام دو قطعه یکی بین ۴۰۰-۳۰۰ جفت باز و قطعه دیگر با اندازه ۱۳۰۰ جفت باز تکثیر شد (شکل ۲ و جدول ۱).

با استفاده از جفت آغازگر E به عنوان پیش‌رو و F به عنوان معکوس در ژنوتیپ‌های KS6، KS7، KS9، KS10، KS8، KS11 و KS12 قطعه‌ای بین ۵۰۰-۴۰۰ جفت باز و در ژنوتیپ‌های KS13، KS14، هیبرید ۱ و هیبرید ۲



شکل ۱- الگوی نواری آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از جفت آغازگر A و B

M1- نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سنگین، M2- نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سبک، B- کنترل منفی، 6- KS₆، 7- KS₇، 8- KS₈، 9- KS₉، 10- KS₁₀، 11- KS₁₁، 12- KS₁₂، 13- KS₁₃، 14- KS₁₄، 15- هیبرید ۱ و 16- هیبرید ۲، ۹- AKS₈، ۱۰- KS₉، ۱۱- KS₁₀، ۱۲- KS₁₁، ۱۳- KS₁₂، ۱۴- KS₁₃، ۱۵- هیبرید ۱ و ۱۶- هیبرید ۲

Fig. 1. Incompatibility alleles banding pattern of studied Asian pear cultivars using A and B primer pair

M1- High range molecular marker, M2- Low range molecular markers, B- Negative control, 6- KS₆, 7- KS₇, 8- KS₈, 9- KS₉, 10- KS₁₀, 11- KS₁₁, 12- KS₁₂, 13- KS₁₃, 14- KS₁₄, 15- Hybrid 1 and 16- Hybrid 2



شکل ۲- الگوی نواری آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از جفت آغازگر C و D

M1- نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سنگین، M2- نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سبک، B- کنترل منفی، 6- KS₆، 7- KS₇، 8- KS₈، 9- KS₉، 10- KS₁₀، 11- KS₁₁، 12- KS₁₂، 13- KS₁₃، 14- KS₁₄، 15- هیبرید ۱ و 16- هیبرید ۲، ۹- AKS₈، ۱۰- KS₉، ۱۱- KS₁₀، ۱۲- KS₁₁، ۱۳- KS₁₂، ۱۴- KS₁₃، ۱۵- هیبرید ۱ و ۱۶- هیبرید ۲

Fig. 2. Incompatibility alleles banding pattern of studied Asian pear cultivars using C and D primer pair

M1- High range molecular marker, M2- Low range molecular markers, B- Negative control, 6- KS₆, 7- KS₇, 8- KS₈, 9- KS₉, 10- KS₁₀, 11- KS₁₁, 12- KS₁₂, 13- KS₁₃, 14- KS₁₄, 15- Hybrid 1 and 16- Hybrid 2

جدول ۱- طول قطعات حاصل از PCR با استفاده از آغازگرهای مورد استفاده بر اساس جفت باز

Table 1. PCR fragments size (base pair) amplified by used primers

ژنوتیپ Genotype	طول قطعات (جفت باز) Fragment size (bp)		
	آغازگرهای A و B A and B primers	آغازگرهای C و D C and D primers	آغازگرهای E و F E and F primers
KS ₆	600-700	300-400	500
KS ₇	600	300	500
KS ₈	600	300	500
KS ₉	600	300	500
KS ₁₀	600	300	500
KS ₁₁	600	300	500
KS ₁₂	600	300	500
KS ₁₃	600-700 and 1500-2000	300-400 and 1300	500 and 1500
KS ₁₄	600-700 and 1500-2000	300-400 and 1300	500 and 1500
Hybrid 1	600-700 and 1500-2000	300-400 and 1300	500 and 1500
Hybrid 2	600-700 and 1500-2000	300-400 and 130	500 and 1500

تکثیر شود. با توجه به نتایج این جفت آغازگر چنین پیش‌بینی می‌شود که در ژنوتیپ‌های KS₆، KS₇، KS₈، KS₉، KS₁₀، KS₁₁ و KS₁₂ آلل S₂ وجود نداشته و احتمالاً آلل ناسازگاری این ژنوتیپ‌ها S₁ یا S₃ تا S₇ باشد. یکی از آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های KS₁₃، KS₁₄، هیبرید ۱ و هیبرید ۲، S₂ و آلل دیگر آن‌ها یکی از آلل‌های S₁ یا S₃ تا S₇ است (شکل ۱ و جدول ۲).

با توجه به مطالعات کاستیلو و همکاران (Castillo *et al.*, 2002) پیش‌بینی می‌شد که جفت آغازگر دوم بتوانند آلل‌های S₁ تا S₈ خود ناسازگاری را تکثیر کنند و قطعاتی با اندازه‌های ۳۷۰-۳۵۰ جفت باز مربوط به S₁،

هر کدام دو قطعه یکی بین ۴۰۰-۵۰۰ جفت باز و قطعه دیگر با اندازه ۱۵۰۰ جفت باز تکثیر شد (شکل ۳ و جدول ۱).

به طور کلی آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش توانستند آلل‌های مورد نظر را تکثیر کنند. نتایج نشان داد که در اکثر موارد آلل ناسازگاری بین آن‌ها وجود دارد و طول قطعات حاصل در جدول ۱ آمده است.

در استفاده از جفت آغازگر اول برای بررسی آلل‌های ناسازگاری، انتظار می‌رفت بر اساس نتایج کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2002) قطعه‌ای با طول ۶۲۹ جفت باز مربوط به آلل S₁، ۱۶۰۰ جفت باز مربوط به آلل S₂ و قطعه‌ای بین ۶۳۸-۶۱۲ جفت باز مربوط به آلل‌های S₃ تا S₇



شکل ۳- الگوی نواری آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از جفت آغازگر E و F

M1- نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سنگین، M2- نشانگر وزن مولکولی نسبتاً سبک، B- کنترل منفی، ۶- KS₆، ۷- KS₇، ۸- KS₈، ۹- KS₉، ۱۰- KS₁₀، ۱۱- KS₁₁، ۱۲- KS₁₂، ۱۳- KS₁₃، ۱۴- KS₁₄، ۱۵- هیبرید ۱ و ۱۶- هیبرید ۲

Fig. 3. Incompatibility alleles banding pattern of studied Asian pear cultivars using E and F primer pair

M1- High range molecular marker, M2- Low range molecular markers, B-Negative control, 6- KS₆, 7- KS₇, 8- KS₈, 9- KS₉, 10- KS₁₀, 11- KS₁₁, 12- KS₁₂, 13- KS₁₃, 14- KS₁₄, 15- Hybrid 1 and 16- Hybrid 2

جدول ۲- پیش بینی آلل‌های ناسازگاری در ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از نتایج حاصل از آغازگر A و B

Table 2. Prediction of Asian pear cultivars incompatibility S alleles by using the results of A and B primers

ژنوتیپ Genotype	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	ژنوتیپ ناسازگاری احتمالی Incompatibility genotype
KS ₆	+	-	+	+	+	+	+	S ₇ S ₇
KS ₇	+	-	+	+	+	+	+	S ₇ S ₇
KS ₈	+	-	+	+	+	+	+	S ₇ S ₇
KS ₉	+	-	+	+	+	+	+	S ₇ S ₇
KS ₁₀	+	-	+	+	+	+	+	S ₇ S ₇
KS ₁₁	+	-	+	+	+	+	+	S ₇ S ₇
KS ₁₂	+	-	+	+	+	+	+	S ₇ S ₇
KS ₁₃	+	++	+	+	+	+	+	S ₂ S ₇
KS ₁₄	+	++	+	+	+	+	+	S ₂ S ₇
Hybrid 1	+	++	+	+	+	+	+	S ₂ S ₇
Hybrid 2	+	++	+	+	+	+	+	S ₂ S ₇

+: احتمالاً این آلل وجود دارد؛ ++: این آلل وجود دارد؛ -: این آلل وجود ندارد؛ ?: نوع آلل مشخص نشده است.

+: Probably this allele exists; ++: This allele exists; -: This allele dose not exist; ?: The allele was not determined

نداشت و پیش‌بینی می‌شود احتمالاً آلل ناسازگاری این ژنوتیپ‌های S_1 یا S_3 تا S_7 باشد (شکل ۲ و جدول ۳).

از آغازگر E و F برای شناسایی آلل S_8 و تایید نتایج جفت آغازگر دوم استفاده شد. در این آزمایش انتظار می‌رفت در صورت وجود آلل S_8 قطعه با طول ۵۶۵ جفت باز و در صورت وجود آلل‌های S_1 ، S_3 تا S_7 قطعه با طول ۴۹۶ جفت باز تولید شود. با توجه به این که در این آزمایش قطعه با طول ۵۶۵ جفت باز تولید نشد (شکل ۳) بنابراین آلل S_8 در ارقام مورد مطالعه وجود نداشت و نتایج این آزمایش با نتایج جفت آغازگر دوم مطابقت داشت که در آنجا هم قطعه با طول ۴۳۶ جفت باز که نشان‌دهنده آلل S_8 بود مشاهده نشد.

۱۳۰۰ جفت باز مربوط به S_2 ، ۳۷۰-۳۵۰ جفت باز مربوط به S_3 تا S_7 و ۴۳۶ جفت باز مربوط به S_8 به دست آید. نتایج به دست آمده از آغازگر C و D با نتایج جفت آغازگر اول مطابقت داشت. بر اساس نتایج حاصل از جفت آغازگر دوم چنین پیش‌بینی می‌شود که یکی از آلل‌های ناسازگاری ژنوتیپ‌های KS_{13} ، KS_{14} ، هیبرید ۱ و هیبرید ۲، S_2 بوده و آلل دیگر آن‌ها یکی از آلل‌های S_1 یا S_3 تا S_7 باشد. نتایج نشان داد که در هیچ یک از ارقام مورد مطالعه آلل S_8 وجود نداشت، زیرا طول قطعه مورد انتظار برای این آلل ۴۳۶ جفت باز بود که در هیچ کدام از ارقام مورد مطالعه مشاهده نشد (شکل ۲). در ژنوتیپ‌های KS_6 ، KS_7 ، KS_8 ، KS_9 ، KS_{10} ، KS_{11} و KS_{12} آلل S_2 وجود

جدول ۳- پیش‌بینی آلل‌های ناسازگاری در ژنوتیپ‌های گل‌ابی آسیایی مورد مطالعه با استفاده از نتایج حاصل از آغازگر C و D

Table 3. The prediction of Asian pear incompatibility S alleles by using the results of C and D primers

ژنوتیپ Genotype	S_1	S_2	S_3	S_4	S_5	S_6	S_7	ژنوتیپ ناسازگاری احتمالی Incompatibility genotype
KS_6	+	-	+	+	+	+	-	S_7S_7
KS_7	+	-	+	+	+	+	-	S_7S_7
KS_8	+	-	+	+	+	+	-	S_7S_7
KS_9	+	-	+	+	+	+	-	S_7S_7
KS_{10}	+	-	+	+	+	+	-	S_7S_7
KS_{11}	+	-	+	+	+	+	-	S_7S_7
KS_{12}	+	-	+	+	+	+	-	S_7S_7
KS_{13}	+	++	+	+	+	+	-	S_2S_7
KS_{14}	+	++	+	+	+	+	-	S_2S_7
Hybrid 1	+	++	+	+	+	+	-	S_2S_7
Hybrid 2	+	++	+	+	+	+	-	S_2S_7

+: احتمالاً این آلل وجود دارد؛ ++: این آلل وجود دارد؛ -: این آلل وجود ندارد؛ ? : نوع آلل مشخص نشده است.

+: Probably this allele exists; ++: This allele exists; -: This allele dose not exist; ?: The allele was not determinated

۵۰ درصد دانه‌های گرده از نظر ژنتیکی قابلیت جوانه‌زدن خواهند داشت. روش PCR برای تعیین ناسازگاری سریع‌تر و راحت‌تر از سایر روش‌ها است و تحت تاثیر عوامل مرتبط با گرده‌افشانی از قبیل شرایط آب و هوایی و بکرزایی قرار نمی‌گیرد و علاوه بر آن به گیاه بالغ برای انجام مطالعات نیازی نیست (Tamura et al., 2000؛ Kim et al., 2002)؛ (Ishimizu et al., 1999). سازگاری و عدم سازگاری بین ژنوتیپ‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و با تعیین دقیق آلل‌های ناسازگاری در برنامه‌های اصلاحی می‌توان از آن‌ها استفاده کرد و مشکلات موجود بر سر راه تشکیل میوه را برداشت و در صورت احداث باغ‌های جدید از خسارت احتمالی وارده جلوگیری کرد. لازم است مطالعات در این زمینه برای تعیین تطابق گلدهی ارقام و مشخص نمودن دوره گرده‌افشانی موثر ادامه پیدا کند.

سپاسگزاری

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش از طرح ملی به شماره ۴۲۲۵ (شورای پژوهش‌های علمی کشور) و همچنین طرح ملی به شماره ۸۴۰۰۶ (صندوق حمایت از پژوهشگران کشور) تحت عنوان مطالعه سازگاری چند رقم گلابی آسیایی با شرایط آب و هوایی ایران: فاز ۲ بررسی سازگاری در چند نقطه آب و هوایی کشور که در دانشگاه تربیت مدرس در حال

در حال حاضر تعداد ارقام خودناسازگار و دگرناسازگار گزارش شده در چندین گونه درخت میوه رو به افزایش است که به نظر می‌رسد به دلیل محدود بودن پایه ژنتیکی در ژنوتیپ‌های تجاری جدید استفاده تعداد محدودی لاین‌های مادری در برنامه اصلاح درختان میوه باشد (Kester et al., 1994)؛ (Egea and Burgas, 1996). نتایج این آزمایش هم نشان داد که تشابه آلل‌های ناسازگاری در ژنوتیپ‌ها وجود دارد و بهتر است در تلاقی‌های جدید به این مسئله توجه شود. پیش‌بینی کاشت درختان گرده‌دهنده در باغ یکی از نیازهای اساسی برای به دست آوردن محصول اقتصادی در مورد بیشتر ارقام است، بنابراین درخت گرده‌دهنده باید با ارقام تجاری کاشته شده سازگار باشد و اجزاء آلل‌های ناسازگاری هر دو رقم باید حداقل در مورد یکی از آلل‌ها مختلف باشد (Sanzol and Herrero, 2002). با توجه به نتایج این آزمایش، ژنوتیپ‌ها KS_{14} ، KS_{13} و هیبریدهای ۱ و ۲ به طور قطع دارای آلل مشترک S_2 هستند و در صورت دگر گرده‌افشانی این ژنوتیپ‌ها با همدیگر، ۵۰ درصد دانه‌های گرده جوانه نخواهد زد. ژنوتیپ‌ها KS_{10} ، KS_9 ، KS_8 ، KS_7 ، KS_6 و KS_{11} و KS_{12} دارای یک آلل متفاوت با ژنوتیپ‌ها KS_{14} ، KS_{13} و هیبریدهای ۱ و ۲ هستند، بنابراین در صورت داشتن تطابق زمان گلدهی (Nyeki, 1996)، گرده‌زای خوبی برای همدیگر خواهند بود و حداقل

اجراست تامین شده است که بدین وسیله تشکر
می گردد. همچنین از مساعدت و حمایت گروه
علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس
تشکر می شود.

References

- Arzani, K. 2002.** The position of pear breeding and culture in Iran: Introduction of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars. *Acta Horticulturae* 587: 167-173.
- Burgos, L., Perez-Tornero, O., Ballester, J., and Olmos, E. 1998.** Detection and inheritance of stylar ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. *Sex Plant Reproduction*. 11: 153–158.
- Castillo, C., Nakanishi, T., Ishimizu, T., Takasaki, T., Norioka, S., and Saito, T. 2002.** S-RNase based PCR-RFLP system for S-genotype assignment in Japanese pear. *Acta Horticulturae* 587: 449-458
- De Nettancourt, D. 1997.** Incompatibility in angiosperms. *Sex Plant Reproduction* 10: 185–199
- Doyle, J. J., and Doyle, J.L. 1990.** Isolation of plant DNA from fresh tissues. *Focus* 12: 13-15.
- Egea, J., and Burgos, L. 1996.** Detecting cross-incompatibility of three North American apricot cultivars and establishing the first incompatibility group in apricot. *Journal of American Society of Horticultural Science* 121: 1002-1005.
- Haring V. H., Gray, J. E., McClure, B. A., Anderson, M. A., and Clarke, A. E. 1990.** Self-incompatibility: a self-recognition system in plants. *Science* 250: 937–971
- Hiratsuka, S., and Zhang, S. L. 2002.** Cultivar differences in the expression of self incompatibility in Japanese pears. *Acta Horticulturae* 587: 437-448.
- Ishimizu T., Inoue, K., Shimonaka, M., Saito, T., Terai, O., and Norioka, S. 1999.** PCR-based method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 961–967.
- Janssens, G. A., Goderis, I. J., Broekaert, W. F., and Broothaerts, W. 1995.** A molecular method for S-allele identification in apple based on allele-specific PCR. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 691–698.
- Kester, D. E., Gradziel, T. M., and Micke, W. C. 1994.** Identifying pollen

- incompatibility groups in California almond cultivars. *Journal of American Society of Horticultural Science* 119: 106-109.
- Kim, H. T., Kim, H. J., Nou, I. S., Hirata, Y., and Kang, K. K. 2002.** Identification of self incompatibility alleles by S-RNase sequencing and PCR-RFLP analysis in Korean-bred pear (*Pyrus pyrifolia*) Strains. *Acta Horticulturae* 587: 467-476.
- Koushesh-Saba, M., Arzani, K. and Jalali-Javaran, M. 2006.** A study on flowering, pollination, self and cross incompatibility of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Science* 37: 755-763 (in Farsi).
- Nee, C. C., Tsai, C. H., and Anstine, D. D. 2002.** Asian pear cultivars-Future trend and current research in the industry. *Acta Horticulturae* 587: 61-69
- Nyeki, J. 1996.** Fertilization conditions. pp. 185-265. In: Nyeki, J., and Soltesz, M. (eds.) *Floral Biology of Temperate Zone Fruits Trees and Small Fruit*. Akademiai Kiado Publications.
- Sanzol, J. and Herrero, M. 2002.** Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Euphytica* 128: 325-331.
- Sassa, H., Mase, W., Hirano, H. and Ikehashi, H. 1994.** Identification of self incompatibility related glycoproteins in styles of apple (*Malus domestica*). *Theoretical and Applied Genetics* 89: 201-205.
- Tamura, M., Ushijima, K., Sassa, H., Hirano, H., Tao, R., Gradziel, T. M., and Dandekar, A. M. 2000.** Identification of self-incompatibility genotypes of almond by allele specific PCR analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 344-349.
- Tehrani, G., and Lay, J. W. 1988.** Verification of pedigrees of different sweet cherry cultivars introduced from Vineland through pollen compatibility studies. *HortScience* 23: 783-788.
- Tomimoto, Y., Nakazaki, T., Ikehashi, H., Ueno, H., and Hayashi, R. 1996.** Analysis of self-incompatibility-related ribonucleases (SRNases) in two species of pears (*Pyrus communis*) and *Pyrus ussuriensis*. *Scientia Horticulturae* 66: 159-167.
- Wiersma, P. A., Wu, Z., Zhou, L., Hampson, C., and Kappel, F. 2001.**

Identification of new self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.) and clarification of incompatibility groups by PCR and sequencing analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 700–708.

Zuccherelli, S., Broothaerts, W., Tassinari, P., Tartarini, S., Dondini, L., Bester, A., and Sansavini, S. 2002. S-allele characterization in self-incompatible pear (*Pyrus communis*): Biochemical, molecular and field analyses. *Acta Horticulturae* 596: 147-152.