[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

شناسایی و تعیین ویژگی‌های ژنومی آلل‌های خودناسازگاری در گونه‌های وحشی گلابی

اعظم نیک‌زاد قره‌آغاجی[۱]، کاظم ارزانی[۲*]، حمید عبداللهی[۳]،
عبدالعلی شجاعیان[۴]، لوکا دونـدینی[۵] و پاولو دفرانچسکی[۶]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۱)

چکیده

گونه‌های گلابی، سیستم خودناسازگاری گامتوفیتی نشان می‌دهند که به‌طور گسترده در میان گیاهان گل‌دار وجود دارد. این سیستم، از طریق مکانیزم شناسایی دانهٔ گرده - مادگی از خودباروری جلوگیری می‌کند. تنوع آلل‌های خودناسازگاری یافت شده در ژنوتیپ‌های ایرانی نشان‌دهندهٔ ردپای ترکیب ژنتیکی معنی‌دار گونه‌های دیگر است؛ بنابراین، ژرم‌پلاسم ایران به‌عنوان بهترین منبع تنوع برنامه‌های به‌نژادی است. بدین منظور، در این مطالعه، آلل‌های خودناسازگاری ۶۴ ژنوتیپ از چهار گونهٔ گلابی؛ *Pyrus communis*، *Pyrus salicifolia*، *Pyrus syriaca* و *Pyrus ussuriensis*، از ایران و اروپا با استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی به روش مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شناسایی شد. نتایج، ۲۳ آلل خودناسازگاری شامل PcS_{101}–PcS_{125} را مشخص کرد و وجود آلل جدید PcS_{127} در تعدادی از ژنوتیپ‌های وحشی گونهٔ *P. communis* از ایران و هم‌چنین حضور آلل S_8 را در گونهٔ *P. pyrifolia syn. P. serotina* آشکار نمود. در اکثر ژنوتیپ‌ها آلل جدید PcS_{127} با آلل دوم PpS_8 همراه بود که نشان می‌دهد این گیاهان از زیر گروه یا جمعیتی حاصل شده‌اند که سهم *P. pyrifolia syn. P. serotina* در دورگ‌گیری بسیار برجسته بوده است. براساس نتایج آلل‌های خودناسازگاری یافت شده، ژنوتیپ‌های ایرانی دارای ترکیب آللی متفاوتی از ارقام و ژنوتیپ‌های اروپایی است چرا که در ژنوتیپ‌های ایرانی ردپای آلل‌های خودناسازگاری گونه‌های مختلف جنس گلابی، یافت شده است. هم‌چنین، کاربرد این روش در ۲۱ رقم با S - آلل‌های شناسایی شده، امکان شناسایی مجدد ترکیب آللی - S و ژنوتیپ‌های خودناسازگاری رقم وردی، با S - آلل‌های PcS_{101}/PcS_{104} و رقم کونسیلر آلاکوئر با S - آلل‌های $PcS_{103}/PcS_{123}/PcS_{105}$ را فراهم کرد.

واژه‌های کلیدی: گونه‌های گلابی، آلل‌های S، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، آلل‌های اختصاصی

۱، ۲ و ۴. به‌ترتیب دانشجوی فارغ التحصیل دکتری، استاد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. دانشیار موسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران
۵ و ۶. به‌ترتیب استادیار و پسادکتری گروه علوم کشاورزی، دانشگاه بولونیا، بولونیا، ایتالیا
*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: arzani_k@modares.ac.ir

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

مقدمه

گونه‌های گلابی متعلق به جنس گلابی، زیر طایفهٔ *Pyrinae*، زیر خانوادهٔ مالوئیده (*Maloideae*) از خانوادهٔ رزاسه (*Rosaceae*) است. گونه‌های گلابی دارای سیستم خودناسازگاری هستند که با سیستم گامتوفیتی تک فاکتوری هم‌ریخت کنترل می‌گردد. این سیستم، از طریق مکانیزم شناسایی دانهٔ گرده – مادگی از خودباروری جلوگیری می‌کند. بنابراین، رشد لولهٔ گردهٔ خودی روی مادگی امکان‌پذیر نبوده و این در حالی است که لولهٔ گردهٔ غیرخودی و سازگار، داخل مادگی رشد کرده و به تخمدان می‌رسد (۵). ویژگی شناسایی خودی / غیر خودی به‌طور ژنتیک توسط تک مکان ژنی– S (S-locus)؛ در مادگی با چندین آلل که S-RNase نامیده می‌شود (۳) و چندین آلل در دانهٔ گرده؛ که دومین F-box نامیده می‌شود (SFBB: S-locus F-Box Brother؛ (۲۶))، کنترل می‌گردد، که به‌ترتیب، تعیین کنندهٔ فعالیت ماده و نر است. علاوه بر جلوگیری از خودباروری، ترکیب آللی در S-locus، دگرباروری بین ارقام را تعیین می‌کند؛ بنابراین دانش ثبت ژنومی آللهای خودناسازگاری یا ژنوتیپ خودناسازگاری ارقام برای تضمین دگرگرده‌افشانی در انتخاب رقم گرده‌زا و ترکیب مناسب ارقام گلابی در باغ‌های گلابی و هم‌چنین انتخاب والدین برای برنامه‌های به‌نژادی بسیار مهم است.

سیستم خودناسازگاری در ارقام و ژنوتیپ‌های گلابی موضوع مطالعات بسیاری است. اولین آلل خودناسازگاری خانوادهٔ وردسانان توسط ساسا و همکاران در گلابی ژاپنی شناسایی شد (۲۵). ویژگی‌های بعدی آللهای خودناسازگاری در گلابی‌ژاپنی (۱۱، ۱۵، ۲۰ و ۲۴) و گلابی اروپایی (۱۰، ۱۹، ۲۱، ۲۲ و ۳۸) توسط همسانه‌سازی cDNA و توالی‌یابی ژنومی، ثبت ژنومی آللهای خودناسازگاری و برنامه‌های به‌نژادی را آسان‌تر کرد. مکانژنی– S، هتروآللی (۸ و ۳۱)، دارای چند شکل بالا و ویژه برای هر هاپلوتیپ می‌باشد که نشان دهندهٔ تنوع کافی برای توسعهٔ نشانگرهای مولکولی به‌منظور ثبت ژنومی آللهای خودناسازگاری است (۱۰). اکثر چند شکل‌ها در ناحیهٔ با تنوع بالا (RHV: Hyper-Variable Region) متمرکز شده‌اند؛ از طرف دیگر، مکانژنی– S دارای پنج ناحیهٔ حفاظت شدهٔ عمومی (C1، C2، C3، RC4 و C5) و یک ناحیهٔ بسیار حفاظت شدهٔ هگزاپپتیدی استاندارد (IIWPNW) است که دقیقاً پایین RHV قرارگرفته است که برای طراحی جفت آغازگر عمومی به‌منظور تکثیر ناحیهٔ بزرگی از آللها به‌کار می‌رود (۲۲). آخرین گزارش برای تعیین آللهای خودناسازگاری گلابی‌های کشت شده توسط سانزول و روبینز انجام شد (۲۲ و ۲۳). این محققان روشی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی را به‌منظور ثبت ژنومی آللهای خودناسازگاری ۲۰ آلل خودناسازگاری در ارقام گلابی اروپایی به‌کار بردند. علاوه بر این، ولکو و همکاران، به‌دلیل پتانسیل معنی‌دار گلابی‌های وحشی به‌عنوان منبع ژن برای غنی کردن ویژگی‌های گونه‌های کشت شده، ویژگی‌های ژنومی آللهای خودناسازگاری هفت گلابی وحشی از گونهٔ *P. pyraster* را بررسی کردند (۳۵) و گزارش نمودند که آللهای خودناسازگاری یافت شده در گونهٔ *P. pyraster* دارای شباهت با آللهای–S گونهٔ *P. communis* هستند اما یکسان نیستند و انتقال آنها از سال‌ها پیش اتفاق افتاده است. تنوع بالای آللهای–S ممکن است به‌دلیل میزان مهاجرت بالای آللهای–S جدید، ایجاد شده باشد. هرچند ایجاد موتاسیون در ترکیب توالی آللهای خودناسازگاری، که منجر به تنوع آللی می‌گردد، را نیز نباید از نظر دور داشت. از طرفی دیگر، در جمعیت‌های وحشی، مکانژنی– S موضوع اصلی انتخاب وابسته به کثرت است. به‌عبارتی دیگر، دانهٔ گرده دربردارندهٔ ویژگی نادری است که تغییرات جفت‌گیری را افزایش می‌دهد، زیرا تنها قسمت کوچکی از گیاهان آن را پذیرش نخواهند کرد؛ بنابراین، فراوانی این ویژگی را در طول نسل افزایش می‌دهد (۳۶). برعکس، فراوانی ویژگی S به‌تدریج تمایل به کاهش شیوع آن در جمعیت دارد. اما، این نوع از انتخاب، باعث حفظ تعداد بالایی از هاپلوتیپ‌های S در جمعیت برای مدت زمان بسیار طولانی می‌شود. تجزیه آللهای خودناسازگاری در گونه‌های

Pyrinae، به‌طور واضح، نشان دهندهٔ تأثیر انتخاب وابسته به کثرت در آنها است (۳۳). هم‌چنین، تکامل نژادی (Phylogeney) آلل‌های خودناسازگاری گونه‌های *Pyrinae* مختلف، شواهدی از به اشتراک گذاشتن چند شکل‌های اجدادی را ارائه می‌دهد (۲، ۶ و ۲۴)، به این معنی که؛ یک آلل از یک گونه اغلب ارتباط نزدیکی با آلل‌های گونه‌ها یا جنس‌های دیگر دارد و این در حالی است که ارتباط نزدیکی با آلل‌های دیگر گونه‌های یکسان ندارد، این موضوع پیشنهاد دهندهٔ تنوع مکان‌ژنی- S در زیرطایفه نسبت به زمان انشعاب جنس‌ها می‌باشد (۱۴). بنابراین احتمال دارد که بیشترین تنوع مولکولی مربوط به گسترش آلل‌های خودناسازگاری گونه‌های *Pyrinae* منشاء گرفته از اجداد مشترک باشد (۵).

ایران به‌دلیل قرارگیری در آسیایی مرکزی و به‌عنوان کشوری روی جادهٔ ابریشم، یکی از مناطق دورگ‌گیری *P. communis* با *P. bretschneideri*، *P. korshinskyi* و *P. pyrifolia syn. P. serotina* می‌باشد (۱۶). ایران یکی از مهم‌ترین مراکز اصلی تنوع‌ژنتیکی ژرم‌پلاسم‌های گلابی است. به این دلیل، این مطالعه با هدف، ثبت ژنومی آلل‌های خودناسازگاری ۴۳ ژنوتیپ وحشی و ۲۲ رقم به‌عنوان کنترل با استفاده از آلل‌های عمومی و اختصاصی بررسی‌گردید.

مواد و روش‌ها

موادگیاهی

مواد گیاهی شامل ۴۳ ژنوتیپ؛ ۳۶ ژنوتیپ از گونهٔ *P. communis* از ایران و انگلستان، یک ژنوتیپ از گونهٔ *P. salicifolia*، چهار ژنوتیپ از گونهٔ *P. ussuriensis*، دو ژنوتیپ از گونهٔ *P. syriaca* و ۲۱ رقم از گونهٔ *P. communis* به‌عنوان کنترل (جدول ۱) در این پژوهش برای ثبت ژنومی آلل‌های PcS_{101} تا PcS_{125} مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های برگ‌های سالم از سرشاخه‌های جوان ارقام و ژنوتیپ‌های گلابی از کلکسیون‌های موسسهٔ اصلاح نهال و بذر کرج - ایران (SPII)، مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان (GANRC) و آذربایجان‌غربی (WANRC) و مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع (RIFR) در ایران و گروه علوم کشاورزی دانشگاه بولونیا - ایتالیا (DIPSA) و مرکز تحقیقات و تکنولوژی کشاورزی آرگون - اسپانیا (CITA)، جمع‌آوری شدند. برگ‌ها بعد از برداشت، در فریزر ۸۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر کاملاً فریز شدند و در دستگاه خشک‌کن انجمادی (HITOSICC, Heto-Holten A/S, Denmark) خشک شدند.

استخراج DNA

برای استخراج DNA ژنومی، مقدار ۵۰ میلی‌گرم از برگ‌های خشک شدهٔ هر ژنوتیپ، با استفاده از دستگاه آسیاب مکانیکی (Mixer Mill MM 300, Retsch GmbH & Co. KG) کاملاً پودر شدند. DNA ژنومی با استفاده از روش CTAB تغییر یافته استخراج شدند (۱۸). DNA های استخراج شده با استفاده از دستگاه نانواسپکتروفتومتر (NanoDrop Technology, Rockland, DE)، مورد ارزیابی کمیت و کیفیت قرار گرفتند. برای استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، نمونه‌های DNA با غلظت ۲۵ نانوگرم رقیق گردیدند.

توسعهٔ واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در ابتدا با استفاده از جفت آغازگر عمومی؛ PycomC1F1(5´ATTTTCAATTTACGCAGCAATATCAGC3´) و PycomC5R1(5´CTGCAAAGGACCTCAACCAATTC3´) تحت شرایط؛ ۲۵ نانوگرم DNA ژنومی، بافر واکنش PCR (۱X)، ۲ میلی‌مولار کلرید منیزیم (۱/۸ میکرولیتر)، ۰/۶ واحد Tag DNA پلی‌مراز (Applied biosystem, Amplitaq Gold DNA Polymerase) (۰/۱ میکرولیتر)، ۰/۲ میلی‌مولار dNTPs (۰/۴ میکرولیتر) و ۰/۶ میکرومولار از هر آغازگر (۰/۹ میکرولیتر از هر آغازگر) تهیه شد و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Applied Biosystems 2720, USA)، تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، تحت برنامهٔ؛ یک‌چرخه در ۱۰ دقیقه - ۹۴ درجهٔ سانتی‌گراد، ۳۵ چرخهٔ سه مرحله‌ای شامل ۳۰ ثانیه - ۹۴ درجهٔ

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

جدول ۱. ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه

نام رقم/ژنوتیپ	محل جمع‌آوری	گونه
وردی (Veerdi/Sweet Blush)	Italy،DIPSA	*P. communis*
اوید (Ovid)	Italy،DIPSA	*P. communis*
کونسیلر آلاکوئر (Conseiller a la Coeur)	Italy،DIPSA	*P. communis*
ریمار رد (Reimer red)	Italy،DIPSA	*P. communis*
دوینه دوکومیس (Doyenné du Comice)	Italy،DIPSA	*P. communis*
آنگلس (Angelys)	Italy،DIPSA	*P. communis*
بوره گیفارد (Beurré Giffard)	Italy،DIPSA	*P. communis*
فرتیلیتی (Fertility)	Italy،DIPSA	*P. communis*
کنفرانس (Conference)	Italy،DIPSA	*P. communis*
دلبارد پرمیر (Delbard première)	Spain،CITA	*P. communis*
پرزیدنت هرون (President Heron)	Italy،DIPSA	*P. communis*
ویلدر (Wilder)	Italy،DIPSA	*P. communis*
بوره کلایرگو (Beurré Clairgeau)	Italy،DIPSA	*P. communis*
اولدهوم (Old Home)	Italy،DIPSA	*P. communis*
مونچالارد (Monchallard)	Spain،CITA	*P. communis*
روزماری (Rosmarie)	Italy،DIPSA	*P. communis*
بلا دی گیونیو (Bella di Giugno)	Italy،DIPSA	*P. communis*
کیفر (Kieffer)	Italy،DIPSA	*P. communis*
دوینه دهیور (Doyenné d'hiver)	Italy،DIPSA	*P. communis*
گرین سامر (Green Summer)	Spain،CITA	*P. communis*
سرمانیو (Ceremeño)	Spain،CITA	*P. communis*
ژنوتیپ ۳۹ (Accession39)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۰ (Accession40)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۱ (Accession41)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۲ (Accession42)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۳ (Accession43)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۴ (Accession44)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۵ (Accession45)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۶ (Accession46)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۴۷ (Accession47)	Iran،Kurdistan	*P. communis*
ژنوتیپ ۶۱ (Accession61)	Iran،WANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۶۲ (Accession62)	Iran،WANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۱ (Accession71)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۲ (Accession72)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۳ (Accession73)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۴ (Accession74)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۵ (Accession75)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۶ (Accession76)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۷ (Accession77)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۸ (Accession78)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۷۹ (Accession79)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۰ (Accession80)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۱ (Accession81)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۲ (Accession82)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۳ (Accession83)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۴ (Accession84)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۵ (Accession85)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۶ (Accession86)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۷ (Accession87)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۸ (Accession88)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۸۹ (Accession89)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۹۰ (Accession90)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۹۱ (Accession91)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۹۲ (Accession92)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۹۳ (Accession93)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۹۴ (Accession94)	Iran،GANRC	*P. communis*
ژنوتیپ ۹۵ (Accession95)	UK،RIFR-Kew	*P. communis*
ژنوتیپ ۹۶ (Accession96)	Iran،SPII	*P. salicifolia*
ژنوتیپ ۹۷ (Accession97)	Iran،WANRC	*P. syriaca*
ژنوتیپ ۹۸ (Accession98)	Iran،WANRC	*P. syriaca*
ژنوتیپ ۹۹ (Accession99)	UK،RIFR-Kew	*P. ussuriensis*
ژنوتیپ ۱۰۰ (Accession100)	UK،RIFR-Kew	*P. ussuriensis*
ژنوتیپ ۱۰۱ (Accession101)	UK،RIFR-Kew	*P. ussuriensis*
ژنوتیپ ۱۰۲ (Accession102)	UK،RIFR-Kew	*P. ussuriensis*

سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه – ۵۷ درجهٔ سانتی‌گراد، ۲ دقیقه – ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد، و در نهایت مرحلهٔ گسترش نهایی: ۷ دقیقه – ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد، انجام گرفت. سپس شرایط واکنش و تکثیر با جفت آغازگرهای توصیف شده توسط سانزول (۲۲) به‌علاوه آغازگرهای اختصاصی طراحی شده با نرم‌افزار Primer3 (http://primer3.wi.mit.edu/)، در این مطالعه، برای تکثیر آلل‌های PcS_{101} تا PcS_{125} انجام گرفت. هم‌چنین، برای شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در گلابی‌های ژاپنی از آغازگرهای اختصاصی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

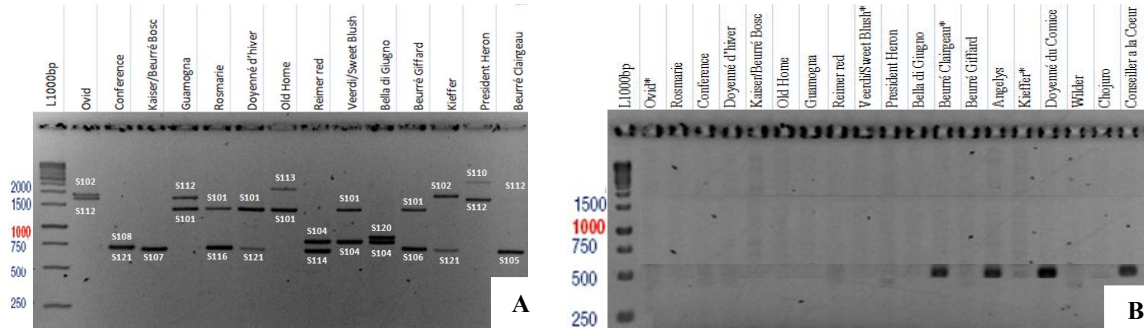
جدول ۲. نام و توالی آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده در این پژوهش

S-RNase	نام آغازگر	توالی (5′→3′)	غلظت آغازگر (µM)	منابع
PcS_{103}	B39S3F1 forward	AGAACATTGATAATTAGGACCAT	0.3	(Sanzol, 2009)
	B40S3R1 reverse	GGTTTCTTATAGTCGATACCTG		(Sanzol, 2009)
PcS_{105}	A55S5F1 forward	ACGGTATGTGGCCTTCAAACAGCTC	0.3	(Sanzol, 2009)
	A57S5R2 reverse	GATTGTCGTTCTGTATTGCGGGTCG		(Sanzol, 2009)
PcS_{106}	PycomC1F1 forward	ATTTTCAATTTACGCAGCAATATCAGC	0.3	(Sanzol, 2009)
	PycomS6R reverse	GCGTGTCGTTCATTATTCGC		(Sanzol, 2009)
PcS_{107}	A60S7F1 forward	CGACCCGGAATATTGCAAGATAAGG	0.4	(Sanzol, 2009)
	A63S7R3 reverse	GGCATTTTCAATGTCCACCAGCACT		(Sanzol, 2009)
PcS_{108}	PycomS8F forward	CTTGTAACGATCGTCCTGAACAA	0.3	(Sanzol, 2009)
	PycomS8R reverse	CCTCAACTAATTCAGTCGTCGTC		(Sanzol, 2009)
PcS_{109}	B47S9F2 forward	TTTGAATGGACCTCACCCTGC	0.4	(Sanzol, 2009)
	B48S9R3 reverse	TATCTACCAGTGGCCTTTTCAA		(Sanzol, 2009)
PcS_{111}	A68S11F1 forward	CAGAAAAATGTAAGACTACAGCTC	0.6	(Sanzol, 2009)
	PycomS11R reverse	TTGTCCCGTTCGGTTGAATAGC		(Sanzol, 2009)
PcS_{112}	B41S12F1 forward	GCTTTGTTTAGTTTTAATGACACG	0.3	(Sanzol, 2009)
	B51S12R3 reverse	GGTTCCTTATCGTCGGTACACT		(Sanzol, 2009)
PcS_{114}	B36S14F2 forward	TGGTTTGTGGCCTTCAGAGTC	0.3	(Sanzol, 2009)
	A71S14R4 reverse	GTCGCTTATCATCGGTACTTGG		(Sanzol, 2009)
PcS_{115}	A83SmF1 forward	TGGCCTTCAAACTGGTACTTATCC	0.6	(Sanzol, 2009)
	B37SmR2 reverse	ATGTACATTTTGATAACAGTTCCG		(Sanzol, 2009)
PcS_{116}	PcS16 forward	GCCAGCTGTCTGCAACTCC	0.4	Designed in this study
	PcS16 reverse	GTCGTTCATTATTGCGGGATAC		Designed in this study
PcS_{121}	B52S21F2 forward	TCACCCAGAAAATTGCACGGAC	0.3	(Sanzol, 2009)
	B53S21R2 reverse	TTTGGTTTCTTATTGTTGATGCTC		(Sanzol, 2009)
PcS_{122}	A84S22F1 forward	CACGCTAGGACCTGACCCGAGT	0.6	(Sanzol, 2009)
	A89S22R1 reverse	CTAGAGACGTTTTGTTTCTTGCAG		(Sanzol, 2009)
PcS_{123}	A88S23F1 forward	CAGCACAGGAAATGACCCAAGAT	0.3	(Sanzol, 2009)
	B38S23R2 reverse	AATTCAGTCCTCTGAGTATAGT		(Sanzol, 2009)
PcS_{124}	A85S24F1 forward	TCTGTGGCCTTCAAACTGGATACT	0.6	(Sanzol, 2009)
	A86S24F2 reverse	GTTGGTACTAATGAGTATGGCAGC		(Sanzol, 2009)
PcS_{125}	PycomC1F1 forward	ATTTTCAATTTACGCAGCAATATCAGC	0.4	(Sanzol, 2009)
	PcS25 reverse	GATTTCGGTCTTACTCACGGT		Designed in this study
PpS_2	PpS2 forward	TCAAATTCTCCCCAGCAAAC	0.4	Designed in this study
	PpS2 reverse	CGTCCATCACACACACTTCC		Designed in this study
PpS_3	PpS3 forward	TCAAACATAGATTTTCATGCACAC	0.4	Designed in this study
	PpS3_5 reverse	GATATTGTTGGTGGGGCAAT		Designed in this study
PpS_4	PycomC1F1 forward	ATTTTCAATTTACGCAGCAATATCAGC	0.4	(Sanzol, 2009)
	PpS4 reverse	TGCATGAAAATCTATGCTGAGC		Designed in this study
PpS_5	PpS5 forward	TCAAACATAGATTTTCATGCACGT	0.4	Designed in this study
	PpS3_5 reverse	GATATTGTTGGTGGGGCAAT		Designed in this study
PpS_6	PpS6 forward	GCGTGTGCAAATATTACAATTGT	0.6	Designed in this study
	PycomC5R1 reverse	CTGCAAAGGACCTCAACCAATTC		(Sanzol, 2009)
PpS_8	PpS8 forward	TCAACATCTTTTCGCGACTG	0.4	Designed in this study
	PycomC5R1 reverse	CTGCAAAGGACCTCAACCAATTC		(Sanzol, 2009)
PpS_9	PpS9 forward	CTCAATCGAAGGGCAAATGT	0.4	Designed in this study
	PpS9 reverse	TTATTGGTGGGGCAGAAAAA	0.3	Designed in this study

طراحی شده برای آلل‌های PpS_2–PpS_6 و PpS_8 و PpS_9 استفاده گردید. درحالی‌که؛ برای شناسایی آلل‌های PpS_1 و PpS_7، به‌دلیل شباهت بالای توالی، به‌ترتیب، به آلل‌های PcS_{111} و PcS_{116} گلابی اروپایی، از جفت آغازگر عمومی و اختصاصی PcS_{116} استفاده شد (جدول ۲).

همسانه‌سازی و توالی‌یابی

اکثر آلل‌های خودناسازگاری، محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز حاصل از آغازگر عمومی با اندازهٔ حدود ۷۰۰ – ۶۵۰ جفت باز تولید کردند. برای همسانه‌سازی، تعدادی از این محصول‌ها به‌طور مستقیم در pGEM-T Easy Vector System (Promega, Madison, WI, USA) و با استفاده از سلول‌های مستعد Escherichia coli DH5α استفاده شد. محصول‌های واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز همسانه‌سازی شده، توسعه یافتند و با آنزیم برشی MseI/Tru1I به‌منظور تمایز آلل‌های مختلف از محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز اولیه برش داده شدند. دو



شکل ۱. باندهای حاصل از تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز DNA ژنومی روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد

A: باندهای حاصل از تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ارقام اروپایی با استفاده از جفت آغازگرهای عمومی

B: باندهای حاصل از تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با جفت آغازگرهای اختصاصی PcS_{105}

پلاسمید با الگوی برشی متفاوت از هر ژنوتیپ برای توالی‌یابی انتخاب شدند. برای توالی‌یابی، قطعهٔ وارد شده با استفاده از آغازگرهای M13 – پیش‌رو و SP6 – پس‌رو انجام گرفت و محصول‌های تکثیر یافته با استفاده از ExoSAP-IT™ خالص‌سازی شدند (۷). محصول خالص‌سازی شده با استفاده از دستگاه MegaBACE 1000 capillary sequencer (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) در دو جهت پیش‌رو و پس‌رو توالی‌یابی شدند. هم‌چنین، تعدادی از آلل‌ها، که محصول‌هایی با اندازهٔ بیشتر از ۱۰۰۰ باز تولید کردند، بر روی ژل آگاروز ۱/۲ درصد الکتروفروز شدند و باندهای برش یافته از روی ژل آگاروز با استفاده از GenElute™ Gel Extraction Kit (Sigma-Aldrich) خالص‌سازی شدند و با جفت آغازگر عمومی در دو جهت پیش‌رو و پس‌رو توالی‌یابی شدند. توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار FinchTV (www.geospiza.com) ویرایش شدند، برای هر آلل، کل توالی با استفاده از هم ردیف کردن توالی‌های پیش‌رو و پس‌رو با نرم‌افزار Lalign (http://www.ch.embnet.org/software/LALIGN_form.html) و ApE (www.ape-a-plasmid-editor.l) به‌دست آمد. توالی‌های CDS با مقایسهٔ توالی‌های S-RNase، Pyrinae موجود در NCBI بعد از هم‌ردیفی (BLAST) توالی‌ها (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi) تعیین شد. توالی‌های اسید آمینه پیش‌بینی شدهٔ تمامی توالی‌های CDS با استفاده از Clustal W (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/) هم‌تراز شدند. توالی‌های اسید آمینه برای ساخت درخت فیلوژنتیک با استفاده از نرم‌افزار MEGA5 Software (http://www.megasoftware.net/)، از طریق روش Neighbor-Joining Tree و برای تخمین فواصل ژنتیک از طریق تجزیه Poisson correction method به‌کار رفتند (۲۸).

نتایج و بحث

تمامی ارقام و ژنوتیپ‌ها، ابتدا با یک جفت آغازگر عمومی و سپس با ۲۳ جفت آغازگر اختصاصی مورد آزمایش قرار گرفت؛ نتایج تکثیر با استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی در جدول ۳ خلاصه شده است. برای اکثر ژنوتیپ‌ها دو آلل شناسایی شد (شکل ۱)، درحالی‌که برای رقم کونسیلر آلاکوئر و ژنوتیپ ۸۷ سه آلل شناسایی شد که تری‌پلوئیدی را نشان می‌دهد. برای ۱۱ ژنوتیپ فقط یک آلل شناسایی شد. روش توالی‌یابی برای آلل‌های ژنوتیپ‌های انجام شده، حضور آلل‌های جدید در اکثر ژنوتیپ‌های ایران را تأیید کرد. تکثیر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با آغازگرهای عمومی برای نه ژنوتیپ؛ ۳۹، ۴۳، ۴۷، ۷۸، ۸۱، ۸۴، ۸۸، ۹۳ و ۹۴ تولید قطعه‌ای با اندازهٔ تقریبی ۷۶۰ جفت باز کرد، که از اندازهٔ موردانتظار برای آلل

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

جدول ۳. اندازه و ترکیب آللی خودناسازگاری ژنوتیپ‌های وحشی گلابی ایران با استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی

ژنوتیپ خودناسازگاری S-genotype	اندازهٔ باند PCR - اختصاصی			اندازهٔ باند PCR - عمومی (bp)	رقم و ژنوتیپ
					ارقام کنترل
$PcS_{101}PcS_{104}$		PcS_{104}	PcS_{101}	750/1,300	وردی
$PcS_{102}PcS_{112}$		PcS_{112}	PcS_{102}	1,600/1,700	اوید
$PcS_{103}PcS_{123}PcS_{105}$	PcS_{105}	PcS_{123}	PcS_{103}	650/ 650/1,600	کونسیلر آلاکوئر
$PcS_{104}PcS_{114}$		PcS_{114}	PcS_{104}	650/750	ریمار رد
$PcS_{104}PcS_{105}$		PcS_{105}	PcS_{104}	650/750	دوینه دوکومیس
$PcS_{105}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{105}	650/650	آنگلس
$PcS_{101}PcS_{106}$		PcS_{106}	PcS_{101}	670/1,300	بوره گیفارد
$PcS_{107}PcS_{112}$		PcS_{112}	PcS_{107}	650/1,600	فرتیلیتی
$PcS_{108}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{108}	650/675	کنفرانس
$PcS_{101}PcS_{109}$		PcS_{109}	PcS_{101}	650/1,300	دلبارد پرمیر
$PcS_{110}PcS_{112}$		PcS_{112}	PcS_{110}	1,600/2,200	پرزیدنت هرون
$PcS_{101}PcS_{111}$		PcS_{111}	PcS_{101}	675/1,300	ویلدر
$PcS_{105}PcS_{112}$		PcS_{112}	PcS_{105}	650/1,600	بوره کلایرگو
$PcS_{101}PcS_{113}$		PcS_{113}	PcS_{101}	1,300/1,900	اولدهوم
$PcS_{104}PcS_{115}$		PcS_{115}	PcS_{104}	650/750	مونچالارد
$PcS_{101}PcS_{116}$		PcS_{116}	PcS_{101}	670/1,300	روزماری
$PcS_{104}PcS_{120}$		PcS_{120}	PcS_{104}	750/800	بلا دی گیونیو
$PcS_{102}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{102}	650/1,700	کیفر
$PcS_{101}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{101}	650/1,300	دوینه دهیور
$PcS_{122}PcS_{124}$		PcS_{124}	PcS_{122}	650/675	گرین سامر
$PcS_{121*}PcS_{125}$		PcS_{125}	PcS_{121*}	1200/>2,000	سرمانیو
					ژنوتیپ‌های ایرانی
PcS_{104} PcS_{127}		PcS_{127}	PcS_{104}	750/760	ژنوتیپ ۳۹
PcS_{116}		-	PcS_{116}	670	ژنوتیپ ۴۰
PcS_{115}		-	PcS_{115}	650	ژنوتیپ ۴۱
PcS_{104}		-	PcS_{104}	700/750	ژنوتیپ ۴۲
PcS_{104} PcS_{127}		PcS_{127}	PcS_{104}	750/760	ژنوتیپ ۴۳
PcS_{121}		-	PcS_{121}	650	ژنوتیپ ۴۴
$PcS_{103}PcS_{122}$		PcS_{122}	PcS_{103}	675/1,600	ژنوتیپ ۴۵
PcS_{122}		-	PcS_{122}	675	ژنوتیپ ۴۶
PcS_{104} PcS_{127}		PcS_{127}	PcS_{104}	750/760	ژنوتیپ ۴۷
$PcS_{104}PcS_{115}$		PcS_{115}	PcS_{104}	650/750	ژنوتیپ ۶۱
PcS_{124}		-	PcS_{124}	650	ژنوتیپ ۶۲
$PcS_{124}PpS_{8}$		PpS_{8}	PcS_{124}	650/750	ژنوتیپ ۷۱
$PcS_{113}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{113}	650/1,900	ژنوتیپ ۷۲
$PcS_{122}PcS_{124}$		PcS_{124}	PcS_{122}	650/675	ژنوتیپ ۷۳
$PcS_{104}PcS_{124}$		PcS_{124}	PcS_{104}	650/750	ژنوتیپ ۷۴
PcS_{124} PpS_{8}		PpS_{8}	PcS_{124}	650/750	ژنوتیپ ۷۵

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

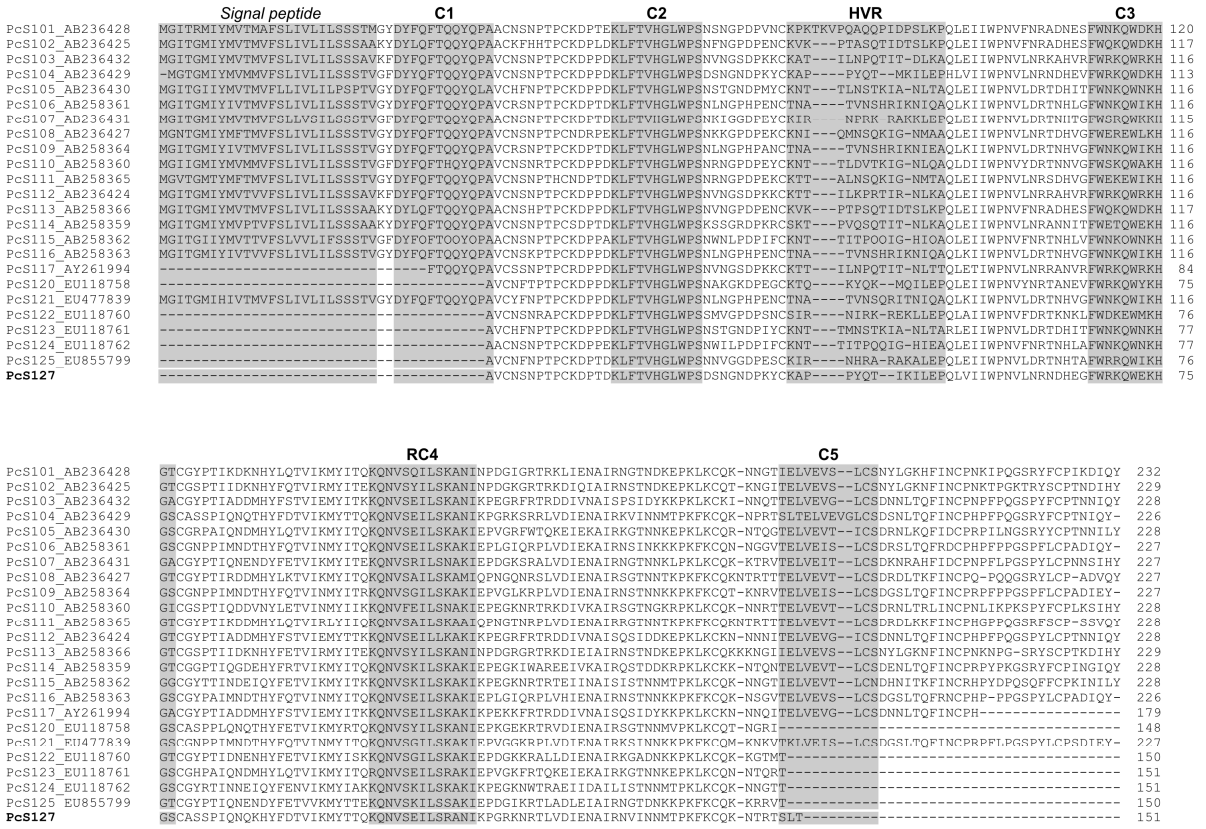
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

ادامه جدول ۳

$PcS_{108}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{108}	650/675	ژنوتیپ ۷۶
$PcS_{107}PcS_{124}$		PcS_{124}	PcS_{107}	650/650	ژنوتیپ ۷۷
PpS_8 PcS_{127}		PcS_{127}	PpS_8	650/760	ژنوتیپ ۷۸
$PcS_{104}PcS_{108}$		PcS_{108}	PcS_{104}	675/750	ژنوتیپ ۷۹
$PcS_{108}PcS_{124}$		PcS_{124}	PcS_{108}	650/675	ژنوتیپ ۸۰
PpS_8 PcS_{127}		PcS_{127}	PpS_8	750/760	ژنوتیپ ۸۱
$PcS_{122}PcS_{124}$		PcS_{124}	PcS_{122}	650/675	ژنوتیپ ۸۲
$PcS_{101}PcS_{108}$		PcS_{108}	PcS_{101}	675/1300	ژنوتیپ ۸۳
PpS_8 PcS_{127}		PcS_{127}	PpS_8	750/760	ژنوتیپ ۸۴
$PcS_{105}PcS_{124}$		PcS_{124}	PcS_{105}	650/650	ژنوتیپ ۸۵
$PcS_{102}PcS_{122}$		PcS_{102}	PcS_{122}	675/1700	ژنوتیپ ۸۶
$PcS_{105}PcS_{122}PcS_{124}$	PcS_{124}	PcS_{122}	PcS_{105}	650/650/675	ژنوتیپ ۸۷
PpS_8 PcS_{127}		PcS_{127}	PpS_8	750/760	ژنوتیپ ۸۸
$PcS_{102}PcS_{108}$		PcS_{102}	PcS_{108}	675/1,700	ژنوتیپ ۸۹
$PcS_{128}PcS_{102}$		PcS_{102}	PcS_{128}	650/1,700	ژنوتیپ ۹۰
$PcS_{105}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{105}	650/650	ژنوتیپ ۹۱
$PcS_{101}PcS_{102}$		PcS_{102}	PcS_{101}	1300/1700	ژنوتیپ ۹۲
PpS_8 PcS_{127}		PcS_{127}	PpS_8	750/760	ژنوتیپ ۹۳
PpS_8 PcS_{127}		PcS_{127}	PpS_8	750/760	ژنوتیپ ۹۴
$PcS_{106}PcS_{121}$		PcS_{121}	PcS_{106}	650/670	ژنوتیپ ۹۵
$PcS_{120}PcS_{125}$		PcS_{125}	PcS_{120}	800/>2,000	ژنوتیپ ۹۶
PsS_5		-	PsS_5	650	ژنوتیپ ۹۷
PsS_3		-	PsS_3	650	ژنوتیپ ۹۸
PuS_{30}		-	PuS_{30}	650	ژنوتیپ ۹۹
PuS_{30}		-	PuS_{30}	650	ژنوتیپ ۱۰۰
$PuS_{37}PuS_{40}$		PuS_{40}	PuS_{37}	650/675	ژنوتیپ ۱۰۱
PuS_{30}		-	PuS_{30}	650	ژنوتیپ ۱۰۲

PcS_{104} (۷۵۴ جفت باز) بزرگ‌تر بود. این آلل از دو ژنوتیپ ۴۷ و ۷۸ توالی‌یابی شد و پیشنهاد شد که با نام آلل PcS_{127} نام‌گذاری شود. این آلل تقریباً با آلل S_{19} از *P. bretschneideri* یکسان بود (Acc. EF643638؛ PbS_{19}). اما PcS_{127} از PbS_{19} توسط جایگزینی تک نوکلئوتید در اگزون دوم تفاوت داشت، که تغییری در کدون ایجاد نمی‌کرد؛ در سطح اسید آمینه، آلل جدید ۱۰۰ درصد تطابق با PbS_{19} داشت. نزدیک‌ترین آلل از *P. pyrifolia syn. P. serotina*، PpS_{12} (Acc. Ab426604) بود که ۹۵ درصد تطابق در سطح اسید آمینه نشان داد. آلل- S دوم تعدادی از این ژنوتیپ‌ها؛ ۷۸، ۸۱، ۸۴، ۸۸، ۹۳، ۹۴ و ژنوتیپ‌های دیگر؛ ۷۱، ۷۵ قطعه‌ای با اندازهٔ تقریبی ۷۵۰ جفت باز با محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با آغازگرهای عمومی نشان داد، که توالی‌یابی آن تطابق کامل آلل را با آلل PsS_8 (Acc. AB104908.1) اثبات کرد. تجزیهٔ آلل جدید، پنج ناحیهٔ عمومی حفاظت‌شده (C1، C2، C3، RC4 و C5) و یک ناحیهٔ بسیار متغییر (RHV) مخصوص S-RNaseهای Pyrinae را نشان داد (شکل ۲). توالی آلل جدید PcS_{127} در پایگاه اطلاعاتی Genbank با شمارهٔ الحاقی KF588568 ثبت شد. دانش ثبت ژنومی آلل‌های خودناسازگاری برای به‌نژادگران و پرورش دهندگان ارقام



شکل ۲. هم‌تراز سازی توالی‌های پروتئین S-RNase (PcS_{101}–PcS_{125}) گلابی اروپایی و آلل جدید پیشنهادی PcS_{127}، پنج ناحیهٔ عمومی حفاظت شده (C1، C2، C3، RC4 و C5) و یک ناحیهٔ بسیار متغییر (RHV) پررنگ شده است.

گلابی بسیار حائز اهمیت است، چرا که؛ اطمینان از انتخاب ترکیبات سازگار در باغ‌ها و انتخاب والدین مناسب برای تلاقی‌های کنترل شده را تضمین می‌کند. درحالی‌که ثبت ژنومی آلل‌های خودناسازگاری برای اکثر ارقام و ژنوتیپ‌های اروپایی انجام گرفته است، گزارش‌هایی در رابطه با ارقام و ژنوتیپ‌های ایرانی وجود ندارد. در حال حاضر، ۲۳ آلل خودناسازگاری متفاوت در گلابی اروپایی گزارش شده است؛ این آلل‌ها به‌صورت PcS_{101} تا PcS_{125}، به‌منظور جلوگیری از تداخل اسمی با گلابی ژاپنی، نام‌گذاری شده‌اند (۱۰). قابل ذکر است که، آلل PcS_{118} با PcS_{112} یکسان است و آلل PcS_{119} نوترکیب یا محصول مصنوعی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز است. در این پژوهش، روش مبنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از آغازگرهای عمومی و اختصاصی ارائه شده توسط سانزول (۲۲) برای ثبت ژنومی آلل‌های خودناسازگاری در ژنوتیپ‌های ایرانی استفاده شد. شش آلل S-؛ PcS_{101}، PcS_{102}، PcS_{104}، PcS_{110}، PcS_{113} و PcS_{120} براساس اندازهٔ باندهای تولید شده توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز عمومی شناسایی شد، ۱۴ آلل دیگر؛ PcS_{103}، PcS_{105}، PcS_{106}، PcS_{107}، PcS_{108}، PcS_{109}، PcS_{111}، PcS_{112}، PcS_{114}، PcS_{115}، PcS_{121}، PcS_{122}، PcS_{123} و PcS_{124} با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز اختصاصی شناسایی شد. آغازگرهای اختصاصی دیگر برای تکثیر آلل‌های PcS_{116}، PcS_{117} و PcS_{125} برای تکمیل محدودهٔ آلل‌های S - شناخته شده در گلابی اروپایی توسعه یافتند. علاوه بر این، در این آزمایش از آغازگرهای اختصاصی، برای شناسایی آلل‌های

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

PpS_1 تا PpS_9 در گلابی ژاپنی به‌کار رفت، زیرا گلابی ژاپنی ردپای معنی‌داری در ژرم‌پلاسم گلابی‌های ایرانی به‌جای گذاشته است (۹). براساس روش مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، ثبت ژنومی آلل‌های خودناسازگاری ۶۴ ژنوتیپ شامل؛ ۴۳ ژنوتیپ وحشی و ۲۱ رقم اروپایی به‌عنوان کنترل با آغازگرهای عمومی و اختصاصی بررسی شد. آغازگرهای طراحی‌شده و مورد استفاده در این مطالعه قادر به تکثیر آلل‌های S- اختصاصی در ارقام کنترل بودند که نشان‌دهندهٔ کارایی بالا و موفقیت‌آمیز این روش در شناسایی S-RNase ها است. در میان ارقام کنترل، دو مورد با گزارشات قبلی مطابقت نداشت یکی در رقم وردی بود که در ابتدا با S- آلل‌های PcS_{101}/PcS_{119} گزارش شده بود (۱۰ و ۲۷)؛ بعداً فرض‌شد که PcS_{119} محصول مصنوعی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و یا آلل نوترکیب است (۲۱). براساس نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر، این رقم دارای ترکیب آللی PcS_{101}/PcS_{104} است و دیگری رقم کونسیلر آلاکوئر بود که در گزارشات قبلی دارای آلل‌های PcS_{103}/PcS_{123} است (۲۲) اما نتایج این پژوهش نشان داد که این رقم دارای آلل سوم PcS_{105} است. این نتایج با تجزیه‌های سیتولوژی سال ۱۹۶۰ (۳۰ و ۳۷) که این رقم را تری‌پلوئید معرفی کرده است، مطابقت دارد.

آلل‌های خودناسازگاری در ژنوتیپ‌های ایرانی دارای ترکیب آللی متفاوتی از ارقام و ژنوتیپ‌های اروپایی است و نشان دهندهٔ ردپای ترکیب ژنتیکی معنی‌دار گونه‌های دیگر است. در هشت ژنوتیپ، حضور آلل گلابی ژاپنی (PpS_8) نشان داده شد؛ علاوه بر این، آلل PcS_{127} که قبلاً گزارش نشده بود در ژرم‌پلاسم ایرانی یافت شد. این مطالعه به‌عنوان اولین گزارش در ثبت ژنومی آلل‌های خودناسازگاری ژنوتیپ‌های گلابی ایران، اطلاعات مهمی را برای پرورش دهندگان و به‌نژادگران گلابی فراهم می‌سازد. براساس نتایج این پژوهش، تعدادی از ترکیبات دگر ناسازگار که دارای ترکیبات S-آلل یکسانی هستند مانند؛ ژنوتیپ ۳۹ و ژنوتیپ ۴۳ با ترکیب آللی PcS_{104}/PcS_{127} و ژنوتیپ ۷۳ و ژنوتیپ ۸۲ با ترکیب آللی PcS_{122}/PcS_{124} و هم‌چنین لوئیس بونه دجرسی و کوشیا با ترکیب آللی PcS_{103}/PcS_{104} نباید به‌عنوان والدین برای برنامه‌های به‌نژادی و یا کاشت در یک باغ به‌کار رود چرا که از نظر ژنتیکی دگر ناسازگار بوده و قادر به گرده‌افشانی همدیگر نبوده و به کاهش میوه و عملکرد در باغ می‌انجامد.

آلل جدید شناسایی شده در نه ژنوتیپ ایرانی از گونهٔ *P. communis* (PcS_{127}) در سطح اسیدآمینه با آلل S_{19} گونهٔ *P. bretschneideri* × یکسان است. در تئوری، این آلل جدید یا در گونهٔ *P. communis* تکامل یافته و یا در این گونه از طریق دورگ‌گیری طبیعی وارد شده است. به‌هرحال، در گونهٔ گلابی اطمینان کامل از منشاء آلل در گونه به‌دلیل وجود خودناسازگاری گامتوفیتی بسیار بالا و توانایی تلاقی‌های بین‌گونه‌ای، امکان‌پذیر نیست. در پژوهش‌های جریانات ژنی در محصول‌ها، معمولاً جمعیت‌های طبیعی خالص (Pure) به‌عنوان مواد استاندارد و کنترل در نظر گرفته می‌شوند، اما با توجه به اینکه در گلابی مانعی برای دورگ‌گیری به‌دلیل خودناسازگاری بالا و توانایی تلاقی‌های بین‌گونه‌ای وجود ندارد، یافتن جمعیت‌های خالص امکان‌پذیر نیست (۱۲). علاوه بر این، شباهت زیاد توالی با آلل‌های جنس‌های دیگر نمی‌تواند ضرورتاً تأیید کنندهٔ این موضوع باشد که این آلل‌ها در جنس *P. communis* از طریق دورگ‌گیری وارد شده‌اند، در حقیقت؛ ژن‌های S-locus تحت تأثیر انتخاب طولانی مدت متعادل وابسته به تکرر (۳۶) و پدیدهٔ تکامل درون گونه‌ای (۱۳) هستند. بدین معنی که، یک آلل اجدادی در گونه‌های متفاوت و حتی جنس برای مدت طولانی بعد از تفرق، تقریباً ماهیت خود را حفظ می‌کند و قابل شناسایی است و در نتیجه، تشابه بین آلل‌های گونه‌های موجود در مقایسات بین گونه‌ای بیشتر از درون گونه‌ای است (۶). بنابراین؛ یافتن آلل‌های خودناسازگاری مشابه یا تقریباً مشابه در گونه‌های متفاوت اما مرتبط غیر معمول نیست. برای تأیید وجود آلل جدید PcS_{127} پیشنهاد می‌شود آزمایش‌های دگر گرده‌افشانی بین ارقام و ژنوتیپ‌های دارای آلل PcS_{127} این پژوهش با رقم *P. bretschneideri* × دارای آلل S_{19} برای بررسی نتایج ترکیبات سازگار و دگر سازگار انجام گیرد.

به‌هرحال، شواهدی فرضیهٔ دورگ‌گیری را به‌عنوان منشاء آلل PcS_{127} در ژنوتیپ‌های ایرانی *P. communis* گزارش می‌کند؛ ایران روی مسیر اصلی جادهٔ ابریشم قرار گرفته است که از چین در طول آسیای مرکزی، افغانستان گذشته و از ایران به سواحل شرقی دریای مدیترانه و بعد از آن مراکز تجاری شرق نزدیک و اروپا پیوند می‌خورد. جادهٔ ابریشم به‌طور تاریخی مرکز تبادل محصول‌ها و تکنولوژی کشاورزی، طی دورهٔ تبادل تجارت و فرهنگ بین چین قدیم و آسیای غرب و مرکزی، است (۳۴). بدین ترتیب؛ ایران کشوری است که نمونه‌های *P. communis* وارد شده از اروپا با ژنوتیپ‌های *P. pyrifolia syn. P. serotina* کشورهای آسیای شرقی در ارتباط بودند.

در کل، ایران یکی از مناطق دورگ‌گیری *P. communis* با *P. × bretschneideri*، *P. korshinskyi* و *P. pyrifolia syn. P. serotina* می‌باشد (۱۶). به‌این دلیل انتظار می‌رود که دورگ‌گیری با گلابی‌های آسیای شرق و جریانات‌ژنی نقش مهمی در ایجاد تنوع در آلل‌های-S ژرم‌پلاسم گلابی ایران گذاشته است؛ به‌طوری‌که، ترکیب ژنتیکی گلابی ژاپنی در ژرم‌پلاسم ایران با شناسایی آلل S_8 گونهٔ *P. pyrifolia syn. P. serotina* در هشت ژنوتیپ وحشی به‌طور واضح ثابت شد. هم‌چنین، توالی آلل جدید PcS_{127}، با آلل S_{19} گونهٔ *P. × bretschneideri* مطابقت داشت، این گونه ابتدا تصور می‌شد که از دورگ‌گیری *P. pyrifolia syn. P. serotina* با *P. ussuriensis* (۳۲) یا *P. betulaefolia* ناشی شده است (۴). تجزیه‌های اخیر با نشانگرهای مولکولی، خویشاوندی نزدیک گلابی‌های ژاپنی و چینی را نشان داده است، بنابراین به نویسندگان این امکان را می‌دهد که *P. × breteschneideri* را به عنوان زیرگونهٔ *P. pyrifolia syn. P. serotina* دانسته و نام آن را به *P. serotina var. sinensis* تغییر دهند (۱ و ۲۹). البته قضاوت تنها براساس آلل‌های خودناسازگاری قطعیت ندارد و حتماً باید براساس نشانگرهای اختصاصی و انگشت نگاری ژنتیکی مثل ریزماهواره‌ها اثبات گردد. بنابراین منطقی است که فرض شود حتی آلل جدید PcS_{127} از طریق *P. pyrifolia syn. P. serotina* ایجاد شده است؛ این آلل به‌نظر می‌رسد که کاملاً در جمعیت وحشی گسترش یافته است. قابل توجه است که در اکثر ژنوتیپ‌ها این آلل با آلل دوم PpS_8 همراه است که نشان می‌دهد این گیاهان از زیر گروه یا جمعیتی حاصل شده‌اند که سهم *P. pyrifolia syn. P. serotina* در دورگ‌گیری بسیار برجسته بوده است.

نتیجه‌گیری

هدف این تحقیق، تعیین ترکیب تک‌مکان ژنی S - در ژنوتیپ‌های ایرانی و ارزیابی میزان مشارکت گونه‌های گلابی روی آلل‌های S - ژنوتیپ‌های *P. communis* است. اطلاعات ژنتیکی به‌دست آمده از تجزیه آلل‌های خودناسازگاری ژنوتیپ‌های وحشی ایران، فرضیهٔ دورگ‌گیری را به‌عنوان اصلی‌ترین مکانیزم در ایجاد ترکیب ژنتیکی متفاوت این ناحیه تقویت می‌کند. به‌نظر می‌رسد موقعیت جغرافیایی و تاریخی ایران باعث ایجاد ژرم‌پلاسمی است که در غنی‌سازی ژنوم گلابی اروپایی توسط ترکیب گلابی‌های آسیایی شرق و گونه‌های آسیایی مرکزی مؤثر بوده است. به‌خاطر تنوع ژنتیکی بالا و وجود آلل‌های جدید، ژرم‌پلاسم ایران به‌عنوان مناسب‌ترین منبع تنوع برنامه‌های به‌نژادی است.

سپاسگزاری

نویسندگان مایل هستند از دکتر سانزول، دکتر محمد نقی پاداشت و مهندس مهشید هناره به‌دلیل فراهم کردن نمونهٔ برگ تعدادی از ژنوتیپ‌ها تشکر کنند. هم‌چنین از حمایت مالی نویسندهٔ اول توسط دانشگاه تربیت مدرس در خصوص انجام این پژوهش و هم‌چنین از دانشگاه بولونیا - ایتالیا درخصوص امکانات و هزینه‌های آزمایشگاهی این پژوهش قدردانی می‌شود.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]

[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]

منابع مورد استفاده

1. Bao, L., K. Chen, D. Zhang, Y. Cao, T. Yamamoto and Y. Teng. 2007. Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus* L.) cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 959–971.
2. Bokszczanin, K., L. Dondini and A. Przybyla. 2009. First report on the presence of fire blight resistance in linkage group 11 of Pyrus ussuriensis maxim. *Journal of Applied Genetics* 50: 99–103.
3. Broothaerts, W., G. A. Janssens, P. Proost and W. F. Broekaert. 1995. cDNA cloning and molecular analysis of two self-incompatibility alleles from apple. *Plant Molecular Biology* 27(3): 499–511.
4. Challice J. S. and M. N. Westwood. 1973. Numerical taxonomic studies of the genus Pyrus using both chemical and botanical characters. *Botanical Journal of the Linnean Society* 67(2): 121–148.
5. De Franceschi, P., L. Dondini and J. Sanzol. 2012. Molecular bases and evolutionary dynamics of self-incompatibility in the Pyrinae (*Rosaceae*). *Journal of Experimental Botany* 63(11): 4015–32.
6. De Franceschi, P., L. Pierantoni, L. Dondin i, M. Grandi, S. Sansavini and J. Sanzol. 2011. Evaluation of candidate F-box genes for the pollen S of gametophytic self-incompatibility in the Pyrinae (*Rosaceae*) on the basis of their phylogenomic context. *Tree Genetics and Genomes* 7(4): 663–683.
7. Dugan, K. A., H. S. Lawrence, D. R. Hares, C. L. Fisher and B. Budowle. 2002. An improved method for post-PCR purification for mtDNA sequence analysis. *Journal of Forensic Sciences* 47(4), 811–8.
8. Entani, T., S. Takayama and A. Isogal. 2003. Molecular mechanism of the S-RNase mediated self-incompatibility system. *Plant and Cell Physiology* 44: 20-120.
9. Erfani, J., A. Ebadi, H. Abdollahi and R. Fatahi. 2012. Genetic diversity of some pear cultivars and genotypes using simple sequence repeat (SSR) markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 30(5): 1065–1072.
10. Goldway, M., T. Takasaki-Yasuda, J. Sanzol, M. Mota, A. Zisovich, R. A. Stern and S. Sansavini. 2009. Renumbering the S-RNase alleles of European pears (*Pyrus communis* L.) and cloning the S109 RNase allele. *Scientia Horticulturae* 119(4): 417–422.
11. Gu, Q., Q. Zhang, H. Hu, Q. Chen and Z. Luo. 2009. Identification of self-Incompatibility genotypes in some sand pears (*Pyrus pyrifolia* Nakai) by PCR-RFLP analysis. *Agricultural Sciences in China* 8(2): 154–160.
12. Iketani, H., T. Manabe, N. Matsuta, T. Akihama and T. Hayashi. 1998. Incongruence between RFLPs of chloroplast DNA and morphological classification in east Asian pear (*Pyrus spp*). Genetic Resources and Crop Evolution 45: 533–539
13. Ioerger, T. R., A. G. Clark and T. H. Kao. 1990. Polymorphism at the self-incompatibility locus in *Solanaceae* predates speciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87(24): 9732–9735.
14. Ishimizu, T., T. Endo, K. Y. Yamaguchi, K. T. Nakamura, F. Sakiyama and S. Norioka. 1998. Identification of regions in which positive selection may operate in S-RNase of *Rosaceae*: Implication for S-allele-specifc recognition sites in S-RNase. *Federation of European Biochemical Societies Letters* 440: 337–342.
15. Kim, H. T., Y. Hirata, H. Kim and I. Nou. 2006. The presence of a new S-RNase allele (S10) in Asian pear (*Pyrus pyrifolia* (Burm; Nakai)). *Genetic Resources and Crop Evolution* 53(7): 1375–1383.
16. Kole, C. 2011. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Temperate Fruits. Springer Heidelberg Dordrecht. Berlin.
17. Kubo, K., T. Entani, A. Takara, N. Wang, A. M. Fields, Z. Hua and S. Takayama. 2010. Collaborative non-self recognition system in S-RNase-based self-incompatibility. *Science* 330(6005), 796–799.
18. Maguire, T. L., G. G. Collins and M. Sedgley. 1994. A modified CTAB DNA extraction procedure for plants belonging to the family proteaceae. *Plant Molecular Biology Reporter* 12(2): 106–109.
19. Moriya, Y., K. Yamamoto, K. Okada, H. Iwanami, H. Bessho, T. Nakanishi and T. Takasaki. 2007. Development of a CAPS marker system for genotyping European pear cultivars harboring 17 S alleles. *Plant Cell Reports* 26(3): 345–354.
20. Saito, T., Y. Sato, Y. Sawamura, M. Shoda, T. Takasaki-Yasuda and K. Kotobuki. 2011. Dual recognition of S_1 and S_4 pistils by S_4^{sm} pollen in self-incompatibility of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *Tree Genetics and Genomes* 8(4): 689–694.
21. Sanzol, J, B. G. Sutherland and T. P. Robbins. 2006. Identification and characterization of genomic DNA sequences of the S-ribonuclease gene associated with self-incompatibility alleles S 1 to S 5 in European pear. *Plant Breeding* 125(5): 513–518.
22. Sanzol, J. 2009. Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases (S-RNases) in European pear cultivars and development of PCR detection for 20 alleles. *Tree Genetics and Genomes* 5(3): 393–405.
23. Sanzol, J. and T. P. Robbins. 2008. Combined analysis of S-Alleles in European pear by pollinations and PCR-

based S-Genotyping; correlation between S-Phenotypes and S-RNase genotypes. *Jornal of American Society Horticultural Scienc*e 133(2): 213–224.
24. Sassa, H, T. Nishio, Y. Kowyama, H. Hirano, T. Koba and H. Ikehashi. 1996. Self-incompatibility (S) alleles of the *Rosaceae* encode members of a distinct class of the T2/S ribonuclease superfamily. *Molecular and General Genetics* 250(5): 547-557.
25. Sassa, H., H. Hirano and H. Ikehashi. 1992. Self-Incompatibility-Related RNases in styles of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.). *Plant Cell Physiology* 33(6): 811–814.
26. Sassa, H., H. Kakui, M. Miyamoto, Y. Suzuki, T. Hanada, K. Ushijima and T. Koba. 2007. S locus F-box brothers: multiple and pollen-specific F-box genes with S haplotype-specific polymorphisms in apple and Japanese pear. *Genetics* 175(4): 1869–81.
27. Takasaki, T., Y. Moriya, T. Nakanishi, H. Iwanami and H. Bessho. 2007. S-genotype assignment of European pear cultivars using S-RNase specific CAPS marker. *Acta Horticulturae* 800(1): 391-399.
28. Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28(10): 2731–2739.
29. Teng, Y., K. Tanabe, F. Tamura and A. Itai. 2002. Genetic relationships of *Pyrus* species and cultivars native to East Asia revealed by randomly amplified polymorphic DNA markers. *Journal of Ameican Society of Horticultural Science* 127(2): 262–270.
30. Uhlik, J. A. N. 1961. The cytological evaluation of some pear-sorts cultivated in Czechoslovakia. *Biologia Plantarum* 3(3): 205–214.
31. Ushijima, K., H. Sassa, A. M. Dandekar, T. M. Gradziel, R. Tao and H. Hirano. 2003. Structural and transcriptional analysis of the self-incompatibility locus of almond: identification of a pollen-expressed F-box gene with haplotype-specific polymorphism. *The Plant Cell* 15(3): 771–781.
32. Vavilov, N. I. 1951. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. *Soil Science* 72(6): 433–434.
33. Vieira, J., H. R. Morales, R. A. M. Santos and C. P. Vieira. 2007. Different positively selected sites at the gametophytic self-incompatibility pistil S-RNase gene in the *Solanaceae* and *Rosaceae* (*Prunus, Pyrus,* and *Malus*). *Journal of Molecular Evolution* 65: 175–185.
34. Wei, H., J. Li, Z. Peng, B. Lu, Z. Zhao and W. Yang. 2008. Relationships of aegilops tauschii revealed by DNA fingerprints: The evidence for agriculture exchange between China and the West. *Natural Science* 18(12): 1525–1531.
35. Wolko, Ł., W. Antkowiak, M. Sips and R. Słomski. 2010. Self-incompatibility alleles in Polish wild pear (*Pyrus pyraster* (L.) Burgsd.): a preliminary analysis. *Journal of Applied Genetics* 51(1): 33–35.
36. Wright, S. 1939. The distribution of self-sterility alleles in populations. Genetics 24, 538–552.
37. Zielinski, Q. B. and M. Thompson. 1967. Speciation in *Pyrus*: chromosome number and meiotic behavior. *Botanical Gazette Journal* 128(2): 109–112.
38. Zuccherelli, S., P. Tassinari, W. Broothaerts, S. Tartarini, L. Dondini and S. Sansavini. 2002. S-Allele characterization in self-incompatible pear (*Pyrus communis* L.). *Sexual Plant Reproduction* 15(3): 153–158.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-12-04]
[DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.19.2]
[DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.239]