

شناسائی ژنوتیپ‌های خودسازگار و خودناسازگار در بادام و برخی از گونه‌های جنس *Prunus* با استفاده از نشانگرهای مولکولی

Identification of Self-Compatibility and Self-Incompatibility Genotypes in Almond and some *Prunus* Species Using Molecular Markers

مهرشاد زین‌العابدینی<sup>۱</sup>، مجتبی خیام‌نکوئی<sup>۲</sup>، علی ایمانی<sup>۳</sup> و پرستو مجیدیان<sup>۴</sup>

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج

۳- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۴- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ساری

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۹/۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۱۷

چکیده

زین‌العابدینی، م.، خیام‌نکوئی، م.، ایمانی، ع. و مجیدیان، پ. ۱۳۹۱ شناسائی ژنوتیپ‌های خودسازگار و خودناسازگار در بادام و برخی از گونه‌های جنس *Prunus* با استفاده از نشانگرهای مولکولی. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۸: ۲۲۷-۲۲۷.

خودناسازگاری گامتوفیتی در بادام با استفاده از یک مکان ژنی چند آلی کنترل می‌شود. به منظور شناسایی آلل‌های S در بادام از آغازگرهای عمومی و اختصاصی در واکنش زنجیره ای پلیمرز ساده و چندتایی استفاده شد. هفتاد رقم بادام زراعی از مناطق جغرافیایی مختلف و بیست و دو گونه دیگر از جنس *Prunus* و نیز برخی از تلاقی‌های بین گونه ای نمونه برداری شدند. با استفاده از آغازگرهای موجود، چهارده آلل S در ارقام بادام و یازده آلل در گونه‌های خویشاوند آن شناسائی شد. آلل  $S_r$  نیز در بعضی ارقام و گونه‌های *Prunus* با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی شناسایی شدند. نتایج حاکی از وجود ارتباط ژنتیکی بین بادام و گونه‌های خویشاوند *Prunus* آن بود. خودناسازگاری ایجاد شده در تعداد زیادی از گونه‌های *Prunus* از خودگشنی جلوگیری کرده و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ها را ایجاد و حفظ می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بادام، آلل‌های سازگاری و خودناسازگاری، واکنش زنجیره ای پلیمرز ساده و چندتایی.

## مقدمه

بادام با نام علمی *Prunus dulcis*، متعلق به خانواده Rosaceae و زیر خانواده Prunoideae است. ارقام وحشی بادام از توده‌های طبیعی در آسیای مرکزی منشاء گرفته‌اند و بومی مناطق کوهستانی خشک آسیای مرکزی و غربی هستند که تا سواحل دریای مدیترانه گسترش یافته است. گونه‌های وحشی این گیاه نیز در این مناطق مشاهده می‌شود. امروزه مناطق عمده کشت بادام در سه ناحیه دنیا شامل آسیا، حوزه مدیترانه و آمریکا (ایالت کالیفرنیا) متمرکز بوده ولی در سطوح محدودی هم در استرالیا، آفریقای جنوبی، آرژانتین و شیلی کشت می‌شود (Gradziel and Kester, 1996). میزان صادرات بادام در جهان نشان از اهمیت ویژه این محصول داشته که در بین سایر خشکبارها، رتبه اول تولید جهانی را دارد. کشورهای آمریکا، اسپانیا، ایران، ایتالیا، مراکش، سوریه، تونس، ترکیه، الجزایر و یونان، به ترتیب بیشترین میزان تولید این محصول را دارند (Anonymous, 2009).

کشت این محصول از دیر باز در ایران رایج بوده است، به طوری که ایران به عنوان یکی از قدیمی‌ترین کشورهای مهم تولیدکننده و یکی از خاستگاه‌های بادام وحشی شناخته شده است. در حدود نوزده گونه *Prunus* در نقاط سردسیری و نیمه سردسیری ایران پراکنده هستند. بر همین اساس برخی از دانشمندان گیاه‌شناس موطن اصلی این گیاه را به ایران

نسبت می‌دهند. پرورش بادام در اکثر مناطق ایران انجام می‌شود، اما مهم‌ترین مراکز تولید از نظر سطح زیر کشت و تولید محصول، استان‌های خراسان، فارس، آذربایجان شرقی، چهارمحال بختیاری، یزد، کرمان، اصفهان و آذربایجان غربی است (Imani, 1997).

اکثر درختان میوه موجود در جنس پرونوس مانند گیلاس، زردآلوی ژاپنی و آلوی ژاپنی خودناسازگار هستند. بادام نیز غالباً خود ناسازگار (Self-incompatible) است و خودناسازگاری آن از نوع گامتوفیتی (Gametophytic self-incompatibility) GSI است و به وسیله یک مکان ژنی با چندین آلل کنترل می‌شود (Halasz et al., 2006). در GSI، سازگاری در یک تلاقی، به وسیله ژنوم هاپلوئید دانه گرده و ژنوم دیپلوئید مادگی گل تعیین می‌شود (de Nettancourt, 2001). در این حالت، از رشد لوله گرده در دانه گرده‌ای که دارای آلل S مشابه خامه‌پذیرنده گرده باشد، ممانعت می‌شود. اساس مولکولی خودناسازگاری گامتوفیتی در گیاهان خانواده Solanaceae به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است. cDNA مرتبط با مکان ژنی S نخستین بار در *Nicotiniana glauca* همسانه‌سازی شد (Anderson et al., 1986). توالی اسید آمینه به شدت بر نقش RNase خامه در واکنش‌های تشخیص و عدم پذیرش در خامه نقش دارد (McClure et al., 1989). فعالیت RNase منطبق با هاپلوتیپ‌های S در

(Dicenata et al., 2002). اخیراً، روش‌های ملکولی در زمینه، شناسایی *Stylar S-RNase* به وسیله الکتروفورز در ژل عمودی اکریلامید و تکثیر اختصاصی آلل‌های S به کمک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و به دنبال آن الکتروفورز در ژل افقی آگارز، پیشرفت چشمگیری کرده است (Halasz et al., 2006).

با توجه به اهمیت دستیابی به اطلاعات کافی در زمینه وضعیت سازگاری گیاهان و نیز به منظور حصول اطمینان از تشکیل میوه و افزایش عملکرد، تاکنون آغازگرهای اختصاصی و عمومی متعددی برای تعیین این صفت در گونه‌های مختلف درختان میوه خانواده Rosaceae از جمله بادام (*Prunus dulcis*)، گیلاس (*Prunus avium*)، زردآلو ژاپنی (*Prunus mume*) و زردآلو (*Prunus armeniaca*) طراحی شده است (Boskovic et al., 2003). از جمله این آغازگرها می‌توان به آغازگرهای عمومی و نیز آغازگرهای طراحی شده برای شناسایی آلل‌های جدید S اشاره کرد (Channuntapipat et al., 2001, 2002, 2003; Tamura et al., 2000; Ma. and Oliveira 2001). همچنین به منظور شناسایی آلل‌های خودناسازگاری  $S_a$ ،  $S_b$ ،  $S_c$  و  $S_d$  در ارقام بادام، آغازگرهای الیگونیوکلئوتیدی از نواحی محافظت شده، طراحی شده است (Tao et al., 1997). بعد از آن سایر محققین، آغازگرهای اختصاصی مختلفی را به منظور

بادام (Tao et al., 1997) و گیلاس (Boskovic and Tobutt, 1996) نیز گزارش شده است. روش الکتروفورز ایزوزیمی ارائه شده به وسیله بوسکوویچ و توبوت (۱۹۹۶) امکان تعیین تطابق بین ریپونوکلئازهای خامه و آلل‌های S را در جنس پرونوس فراهم کرد. از این روش برای تعیین خصوصیات ارقام موجود در یک کلکسیون بادام استفاده شد (Boskovic et al., 1997). همچنین بعدها این روش در نقشه‌یابی ژن *S-RNase* در جمعیت حاصل از تلاقی ارقام Ferragnes در Tuono و تخصیص آن‌ها به G6 استفاده شد (Ballester et al., 1998).

اگر چه تشخیص این صفت در بادام توسط تافتس و همکارانش در سال (۱۹۱۹) انجام شد، اما روند شناسایی گروه‌های دگرناسازگار و آلل‌های خودناسازگار خیلی کند بوده و تا به امروز نیز نسبتاً ناشناخته باقی مانده است (Lopez et al., 2005, 2006). اثبات اساس ژنتیکی خودسازگاری و خودناسازگاری نسبتاً جدید بوده و با توجه به مطالعات انجام شده به موازات برنامه‌های به‌نژادی، پایه‌ریزی شده است (Wunsch and Hormoza, 2004). شناسایی آلل‌های خودناسازگار از طریق مطالعات گرده‌افشانی، کاری سخت و طاقت فرسا است. امروزه شناسایی ژنوتیپ‌های خودسازگار و خودناسازگار، عمدتاً از طریق تلاقی‌های کنترل شده در مزرعه یا آزمایشگاه و تجزیه و تحلیل *RNase* در آزمایشگاه انجام می‌شود

قرار گرفت. آلل‌های تعیین‌کننده خودسازگاری و خودناسازگاری با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (*S-allele specific PCR*) شناسایی شدند. مجموعه آغازگرهای مطالعه شده برای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ساده، شامل ASI<sub>III</sub> (رو به جلو)، AmyC5R (معکوس)، معرف توالی‌های متداول در آلل‌های تعیین‌کننده خودناسازگاری بادام، AmyC5R (معکوس) و CEBA<sub>Sf</sub> (رو به جلو)، طراحی شده برای آلل خود سازگاری *S<sub>f</sub>* بودند. علاوه بر این دو مجموعه آغازگر دیگر نیز برای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندتایی (Multiplex-PCR) استفاده شد که شامل ASI<sub>III</sub> (رو به جلو)، CEBA<sub>Sf</sub> (رو به جلو) و AmyC5R (معکوس)، A1Sc1 (رو به جلو)، A1Sd2 (رو به جلو) و AmyC5R (معکوس) بودند.

زنجیره‌های پلیمرز در حجم ۲۵μl شامل بافر PCR [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] ۱۶mM، Tween 20، [۶۷mM Tris-HCL pH8.8، ۰/۱mM از هر یک از نمونه‌های dNTP، ۰/۲ μM، ۰/۱٪ MgCl<sub>2</sub>، ۰/۱mM از هر یک از آغازگرها، یک واحد Taq DNA polymerase و ۹۰ نانوگرم DNA انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل، یک چرخه واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه با واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها به مدت یک دقیقه در دمای ۵۳ درجه سانتی‌گراد، بسط در دمای

شناسایی آلل‌های اختصاصی مانند (*S<sub>3</sub>*، *S<sub>1</sub>*)، (*S<sub>8</sub>*، *S<sub>7</sub>*، *S<sub>1</sub>*) و (*S<sub>f</sub>*، *S<sub>5</sub>*، *S<sub>2</sub>*، *S<sub>9</sub>*، *S<sub>25</sub>* و *S<sub>f</sub>*) عرضه کردند و تا کنون ۴۴ آلل خودناسازگاری با عنوان *S<sub>1</sub>* تا *S<sub>44</sub>* و *S<sub>a</sub>*، *S<sub>b</sub>*، *S<sub>c</sub>* و *S<sub>d</sub>*) و یک آلل خودسازگاری *S<sub>f</sub>* در بادام و گونه‌های خویشاوند آن شناسایی شده است (Martinez- Gomez *et al.*, 2003؛ Kodad *et al.*, 2008؛ Halasz *et al.*, 2006؛ Ortega *et al.*, 2009؛ Rahemi *et al.*, 2010).

هدف از این مطالعه بررسی کارایی آغازگرهای عمومی و اختصاصی موجود در زمینه شناسایی اولیه آلل‌های خودسازگاری و خودناسازگاری در ارقام مختلف بادام، خصوصاً ارقام ایرانی و نیز برخی از گونه‌های خویشاوند پرونوس و تلاقی‌های بین گونه‌ای بود.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه، هفتاد رقم بادام زراعی شامل ارقام ایرانی و خارجی و نیز بیست و دو گونه دیگر از جنس پرونوس و برخی از تلاقی‌های بین گونه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌برداری از کلکسیون‌های بادام مراکز تحقیقاتی CEBAS-CSIC (اسپانیا)، ABRICI (ایران) و استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری و آذربایجان غربی و شرقی طی سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ انجام شد. DNA ژنومی به روش Doyle and Doyle (1987) استخراج شد و از طریق روش‌های اسپکتروفتومتری و ژل آگارز (۰/۸ درصد) مورد ارزیابی کمی و کیفی

SYNGENE انجام شد.

۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. محصولات تکثیر شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک شد. امتیاز دهی و تعیین اندازه آلل‌ها، به وسیله نرم‌افزار آنالیز ژل GeneTools از شرکت

### نتایج و بحث

مشخصات آغازگرهای استفاده شده در این تحقیق در جدول ۱ نشان داده شده است.

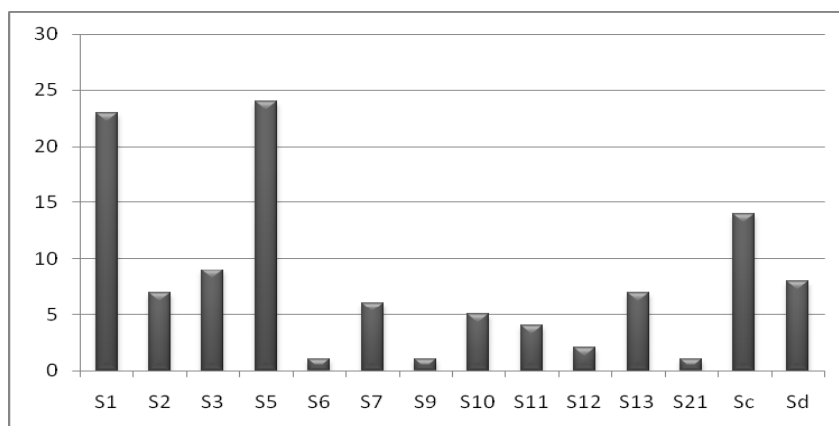
جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده برای شناسایی آلل‌های S در بادام و گونه‌های خویشاوند

Table 1. The characteristics of primers used for identification of S-alleles in almond and relative species

مارکرهای مولکولی	گروه لینکازی	مشخصات مولکولی	دمای اتصال
Molecular markers	Linkage group	Molecular description	Annealing temperature
AmyC5R/AS1III	G6	1 <sup>st</sup> Intron S-RNase	53
AmyC5R/CEBASf	G6	1 <sup>st</sup> Intron S-RNase	53
AmyC5R/AS1III/CEBASf	--	--	53
AmyC5R/A1Sc1/A1Sd2	--	--	53

شناسایی شد که در این میان آلل‌های S<sub>5</sub> و S<sub>1</sub> از فراوانی بیشتری برخوردار بودند (شکل ۱).

در این مطالعه، چهارده آلل خودناسازگاری (S<sub>1</sub>، S<sub>2</sub>، S<sub>3</sub>، S<sub>5</sub>، S<sub>6</sub>، S<sub>7</sub>، S<sub>9</sub>، S<sub>10</sub>، S<sub>11</sub>، S<sub>12</sub>، S<sub>13</sub>، S<sub>c</sub> و S<sub>d</sub>) در ارقام تجاری بادام



شکل ۱- مقایسه فراوانی آلل‌های S تکثیر شده در ارقام بادام و گونه‌های خویشاوند  
Fig. 1. Frequency of S-alleles amplified in almond cultivars and relative species

تفاوت در اندازه قطعات تکثیر شده به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (۲-۰/۲ Kb) امکان  
تفکیک این آلل‌ها را فراهم ساخت (جدول ۲ و شکل‌های ۲ و ۳).

جدول ۲- آلل‌های S شناسائی شده در نمونه‌های بادام و گونه‌های خویشاوند با استفاده از آغازگرهای (AS1II + AmyC5R) و (AmyC5R + A1Sd2+A1Sc1)

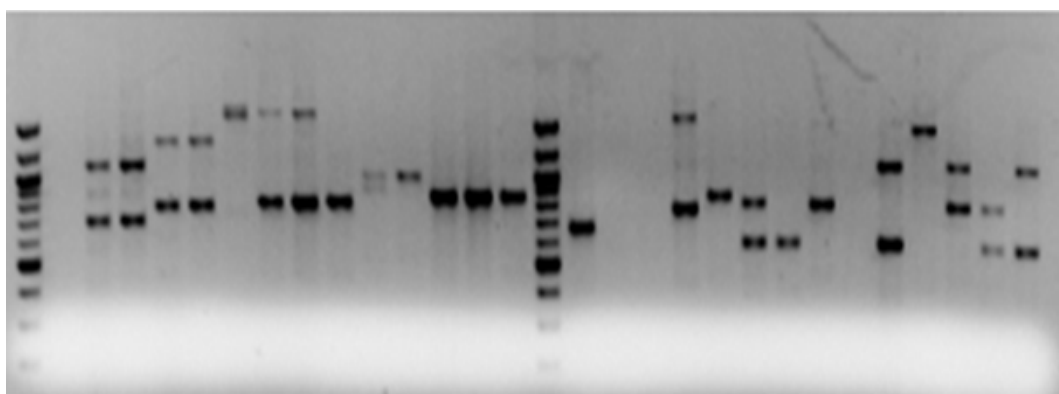
Table 2. The information of self-incompatibility alleles identified in almond cultivars and relative species using AmyC5R, A1Sd2, A1Sc1, AS1II and AmyC5R primers

نمونه‌ها Samples	اندازه قطعات تکثیر شده Product size (kb)	آلل S S-alleles
Ferragnes, Masbovera, Glorieta, Desmayo L., Marta, Texas, Cristomorto, All in one, Tuono, Genco, Guara, Longuedoc, mission27, Ardechoise, Arak1, Hamedan5, Sahand, Yalda, <i>P.webbii</i> , <i>P.fenzliana</i> , <i>P.scoparia</i> , <i>P.lycioides</i> , <i>P.webbii</i> × <i>P.dulcis</i>	1.1	S <sub>1</sub>
Cristomorto, Achaak, Arak2, Hamedan4, Spanish200, <i>P.vavilov</i> , <i>P.eleagnifoliai</i>	0.8	S <sub>2</sub>
Ferragnes, Lauranne, Antoneta, Marta, Tuono, Guara, <i>P.scoparia</i> , <i>P.lycioides</i> , <i>P.webbii</i> × <i>P.dulcis</i>	1.2	S <sub>3</sub>
Primorsky, Glorieta, Desmayo L., Texas, Longuedoc, Mission27, Carmel26, Arak3, Arak4, Hamedan8, Dobahre, Shiraz10, Rabii, Sladkoplodd, MMNP2, MNVC, MNVA1, Jordi, Colorada, <i>P.lycioides</i> , <i>P.mandshurica</i> , S5133 × <i>P.scoparia</i> , <i>P.fenzliana</i> , <i>P.scopari</i>	0.6	S <sub>5</sub>
Ramillete	0.8	S <sub>6</sub>
R1000, Garrigues, Cellastan, Azar, <i>P.hauskenchtii</i> , <i>P.scoparia</i>	2	S <sub>7</sub>
Primorsky	0.8	S <sub>9</sub>
Ardechoise, Guara, MNNF1, Desentnij, MNVC	1.2	S <sub>10</sub>
Marcona, <i>P.webbii</i> , <i>P.armenica</i> × <i>P.dulcis</i> , <i>P.eleagnifolia</i>	0.7	S <sub>11</sub>
Del cid, <i>P.webbii</i> × <i>P.dulcis</i>	1.6	S <sub>12</sub>
Atocha, Garrigues, Cellastan, <i>P.vavilov</i> , <i>P.hauskenchtii</i> , <i>P.eleagnifolia</i> , <i>P.scoparia</i>	1.4	S <sub>13</sub>
Bonita	0.8	S <sub>21</sub>
Arak1, Spanish200, Hamedan1, Arak4, Dobahre, Shiraz10, Monagha, Rabii, Ferragnes, Peraleja, Lauranne, Shokofeh, Azar, <i>P.kotchki</i> ,	0.2	S <sup>c</sup>
Hamedan22, R1000, Nonpareil, All in one, Tardy Nonpareil, <i>P.lycioides</i> , <i>P.gorki</i> , S5133 × <i>P.scoparia</i>	0.3	S <sup>d</sup>

متفاوت در ارقام دیگر بادام یافت شد که شناسائی دقیق آن‌ها مستلزم بررسی دقیق‌تر است. البته در برخی از گونه‌ها مانند *P. bucharica* نیز تکثیر آلل‌های خودناسازگاری به کمک این آغازگرها انجام نشد.

نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ساده و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندتایی با

برخی از آلل‌های این ارقام (S<sub>8</sub>, S<sub>19</sub>, S<sub>22</sub>, S<sub>23</sub>, S<sub>25</sub>, S<sub>x</sub>, S<sub>a</sub> و S<sub>b</sub>) به کمک آغازگرهای مورد استفاده تکثیر نشدند. نتایج فوق تا حدودی با سایر نتایج حاصل از دیگر تحقیقات همخوانی داشت (Castric and Vekemans, 2004؛ Lopez et al., 2006؛ Rahemi et al., 2010). علاوه بر این، تعدادی نوار جدید با اندازه



شکل ۲- الگوی نواری حاصل از جفت آغازگرهای AmyC5R و AS1II برخی از ارقام بادام و گونه‌های خویشاوند

Fig. 2. Banding pattern of *S*-alleles in some almond cultivars and relative species using AmyC5R, AS1II primers

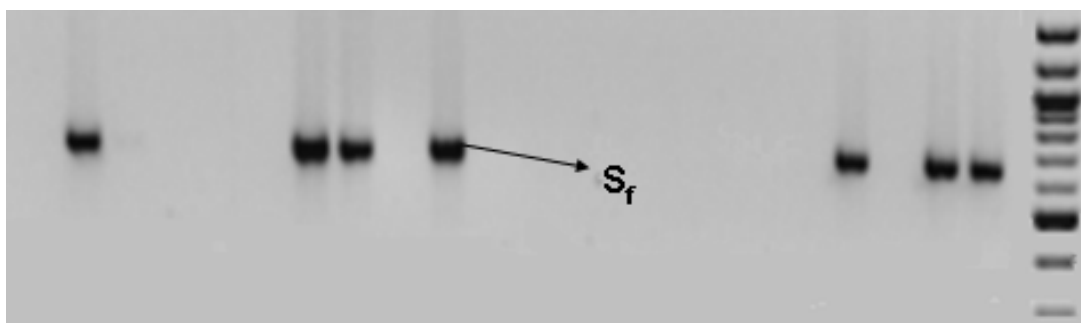


شکل ۳- الگوی نواری حاصل از آغازگرهای AmyC5R، A1Sc1 و A1Sd2 برخی از ارقام بادام و گونه‌های خویشاوند

Fig. 3. Banding pattern of *S*-alleles in some almond cultivars and relative species using AmyC5R, A1Sc1 and A1Sd2 primers

و *P. lycioides* نیز آلل خودسازگاری شناسائی شد. البته اثبات خودسازگار بودن این نمونه‌ها مستلزم انجام تلاقی‌های کنترل شده و یا توالی‌یابی این قطعات است (شکل ۴). وجود آلل‌های خودسازگاری در برخی از کلون‌های گونه‌های فوق می‌تواند نشانه خویشاوندی این گونه‌ها با ارقام اهلی و نیز نشان‌دهنده احتمال منشاء گرفتن آلل خودسازگاری ارقام اهلی از این گونه‌ها

استفاده از آغازگر CEBASf امکان شناسائی آلل خودسازگاری *S<sub>f</sub>* (۰/۴ Kb) را فراهم ساخت. همان‌گونه که انتظار می‌رفت، این آلل در ارقام Marta، Antoneta، Lauranne، Genco، Tuono و Guara مشاهده شد. علاوه بر این در نمونه‌های دیگری نیز مانند R1000 و Spanish 230 (ژنوتیپ موجود در کلکسیون اصفهان) و برخی از افراد گونه‌های *P. webbii*



شکل ۴- آلل‌های خود سازگاری در برخی از ارقام بادام و گونه‌های وحشی با استفاده از آغازگرهای CEBASf و AmyC5R

Fig. 4. Illustration of self-compatibility alleles in some almond cultivars and wild speices using AmyC5R and CEBASf primers

آلل‌های یافت شده در این تحقیق را تأیید می‌کند (Imani *et al.*, 1997) و ایمانی، گزارش‌های منتشر نشده). البته به منظور بررسی دقیق‌تر آلل‌های شناسائی شده در سایر ارقام ناشناخته و گونه‌های خویشاوند، انجام مطالعات مزرعه‌ای نیز الزامی است. به عنوان مثال، در میان ارقام ایرانی مورد مطالعه، آلل  $S_f$  در رقم Spanish 230 شناسائی شد، اما به منظور تأیید خودسازگار بودن این رقم و بهره‌برداری از آن، می‌توان از تلاقی‌های کنترل شده استفاده کرد. نتایج به دست آمده پیرامون این صفت، نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی نزدیک میان کلیه گونه‌های پرونوس مورد مطالعه است. در نتیجه امکان انتقال این صفت بین این گونه‌ها، طی برنامه‌های به‌نژادی و مهندسی ژنتیک وجود دارد. همچنین می‌توان گفت که آغازگرهای ارائه شده به وسیله تامورا و همکاران (Tamura *et al.*, 2000) برای شناسائی آلل‌های خودناسازگاری در ارقام بادام و

باشد. به جز مواردی که وجود آلل خودسازگاری در آن‌ها مشاهده شد، سایر ارقام، ژنوتیپ‌ها و گونه‌های خویشاوند خودناسازگار بودند. استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چندتایی ابزار قدرتمند است که با هزینه کمتر امکان ارزیابی تعداد آلل بیشتری را به طور همزمان فراهم می‌کند. آغازگرهای عمومی ارائه شده به وسیله تامورا و مرکز تحقیقاتی CEBAS در شناسائی تعدادی از آلل‌های خودناسازگاری و نیز آلل  $S_f$  کاملاً کارآمد بود (Tamura *et al.*, 2000؛ Martinez-Gomez *et al.*, 2003). مارتینز گومز و همکاران (Martinez-Gomez *et al.*, 2005) و محققین دیگر نیز بر کارایی این آغازگرها در شناسائی هشت آلل خودناسازگاری در ارقام تجاری بادام تأیید کردند (Ma and Olivier, 2001). مقایسه داده‌های به دست آمده از تلاقی‌های مزرعه‌ای برای ارقام مهم تجاری بادام، وجود



گونه‌های خویشاوند، حالت اختصاصی نداشته و توالی‌های نوکلئوتیدی این آغازگرها در بادام و سایر خویشاوندان نزدیک آن کاملاً محافظت شده است. مشاهده باندهایی با اندازه جدید، احتمال شناسایی آلل‌های خودناسازگاری جدیدی را به وسیله این آغازگرها فراهم می‌کند. بر اساس نتایج مشاهده شده، وجود آغازگرهای غیر اختصاصی فوق برای برنامه‌های اصلاح بادام در کالیفرنیا مفید است، زیرا تعداد آلل موجود در ارقام کالیفرنایی محدود است و اکثر ارقام تجاری بادام کالیفرنایی دارای چهار آلل غالب  $S^a$ ،  $S^b$ ،  $S^c$  و  $S^d$  هستند (Sanchez-Perez *et al.*, 2004). در مقابل با توجه به وجود تعداد آلل زیاد در ارقام اسپانیایی، عرضه آغازگرهای اختصاصی‌تر می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی مفیدتر باشد. منشأ اصلی چند شکلی بالا در سیستم ناسازگاری گامتوفیتی، جهش‌های نقطه‌ای و گزینش‌های ایجاد شده در گونه‌های دگرگرده افشان است. عقیده بر این است که در جمعیت گیاهی یک گونه خودناسازگار، آلل  $S$  ترجیحاً گسترش یافته تا به یک حالت تعادل برسند. بنابراین فراوانی همه آن‌ها در آن جمعیت باید

تقریباً نزدیک بهم باشد که البته این امر همواره صادق نبوده است. بر اساس مطالعات مختلف مشاهده شده، جداسازی جغرافیایی و نیز گزینش در تکامل این صفت نقش داشته است (Silva and Goring, 2001). با انجام مطالعات دقیق‌تر مزرعه‌ای و آزمایشگاهی، پیرامون تعداد و نوع آلل‌های خودناسازگاری و خودسازگاری در گونه‌های خویشاوند بادام می‌توان به منشأ ژنتیکی آن و نیز ژنوتیپ هر یک از آن‌ها پی برد. آگاهی از آلل  $S$  و ژنوتیپ ارقام بادام به منظور به حداکثر رساندن کارایی تلاقی‌ها و نیز توصیه رقم جهت احداث باغ‌های جدید ضروری است (Socias i Company, 1990). میزان عملکرد در ارقام خودسازگار بادام حتی در شرایط دگرگرده‌افشانی ضعیف نیز بالاست. با توجه به این که دوره نونهالی در بادام حداقل سه سال است، گزینش و غربال‌سازی دانه‌های خودسازگار به دست آمده در برنامه‌های به‌نژادی، به کمک روش‌های ملکولی و آغازگرهای اختصاصی از اهمیت به‌سزائی برخوردار است (Martinez-Gomez *et al.*, 2003).

## References

- Anderson, M. A., Cornish, E. C., Mau, S. L., Willams, E. G., Hoggart, R., Atkinson, A., Bonig, I., Grego, B., Simpson, R., Roche, P. J., Haley, J. D., Penschow, J. D., Niall, H. D., Tregear, G. W., Coghlan, J. P., Crawford, R. J., and Clarke, A. E. 1986. Cloning of DNA for a stylar glycoprotein associated with expression of self-incompatibility in *Nicotiana alata*. *Nature* 321: 38–44.

- Anonymous. 2009.** Statistical Databases: Agriculture. Available at: <http://faostat.fao.org>.
- Ballester, J., Boskovic, R., Batlle, I., Arus, P., Vargas, F., and de Vicente, M. C. 1998.** Location of the self-incompatibility gene in the almond linkage map. *Plant Breeding* 117: 69–72.
- Boskovic, R., and Tobutt, K. R. 1996.** Correlation of stylar ribonuclease zymograms with incompatibility alleles in sweet cherry. *Euphytica* 90: 245–250.
- Boskovic, R., Tobutt, K. R., Batlle, I., and Duval, H. 1997.** Correlation of stylar ribonuclease zymograms and incompatibility genotypes in almond. *Euphytica* 90: 245–250.
- Boskovic, R., Tobutt, K. R., Batlle, I., Duval, H., Martinez-Gomez, P., and Gradziel, T. M. 2003.** Stylar ribonuclease in almond: correlation with and prediction of incompatibility genotypes. *Plant Breeding* 122:70-76.
- Castric, V., and Vekemans, X. 2004.** Plant self-incompatibility in natural populations: a critical assessment of recent theoretical and empirical advances. *Molecular Ecology* 13: 2873-2889.
- Channuntapipat, C., Sedgley, M., Batlle, I., Arus, P., and Collins, G. 2002.** Sequences of the genomic cDNA encoding the *S1*, *S9*, *S10* and *S23* alleles from almond, *Prunus dulcis*. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 77(4): 387-392.
- Channuntapipat, C., Sedgley, M., and Collins, G. 2001.** Sequences of the cDNAs and genomic DNAs encoding the *S1*, *S7*, *S8* and *Sf* alleles from almond, *Prunus dulcis*. *Theoretical and Applied Genetics* 103:1115-1122.
- Channuntapipat, C., Wirthensohn, M., Raesh, S. A., Batlle, I., Arus, P., Sedgley, M., and Collins, G. 2003.** Identification of incompatibility genotypes in almond using specific primers based on the introns of the S-alleles. *Plant Breeding* 122: 164-168.
- de Nettancourt, D. 2001.** Incompatibility and Incongruity in Wild and Cultivated Plants. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Dicenata, F., Ortega, E., Martinez-Gomez, P., Boskovic, R., and Tobutt, K. R. 2002.** Comparison of homozygous and heterozygous self-compatible seedlings in an almond breeding programme. *Euphytica* 124: 23-27.

- Doyle, J. J., and Doyle, J. L. 1987.** A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Gradziel, T.M., and Kester, D.E. 1996.** Genetic improvement. pp. 70-75. In: Micke, W. C. (ed.). *Almond Production Manual*. Division of Agricultural and Natural Resources, University of California, Oakland, CA, USA.
- Halasz, J., Hegedus, A., and Pedryc, A. 2006.** Review of the molecular background of self-incompatibility in rosaceous fruit trees. *International Journal of Horticultural Science* 12: 7-19.
- Imani, A. 1997.** Study on the effectiveness of some physiologic and biologic traits in selected almond cultivars. Ph.D. Thesis, College of Agriculture Tarbiat Modaress University, Tehran, Iran ( in Persian ).
- Imani, A., Talai, A. R. Vezvaei, A., Majidi, E., and Ghafari, A. R. 1997.** The Growth of pollen and fruit production in selective almond cultivar A-82 by self-pollination. *Seed and Plant*. 13: 22-31 (in Persian ).
- Kodad, O., Alonso, J. M., Sanchez, A., Oliveira, M. M., and Socias i Company, R. 2008.** Evaluation of genetic diversity of S-alleles in an almond germplasm collection. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83(5): 603-608.
- Lopez, M., Romero, M., Vargas, F. J., Mnejja, M., Arus. P., and Batlle, I. 2005.** Francoli, a late flowering almond cultivar re-classified as self-compatible. *Plant Breeding* 124: 502-506.
- Lopez, M., Vargas, F. J., and Batlle, I. 2006.** Self- (in) compatibility almond genotypes: A review. *Euphytica* 150(1-2): 1-16.
- Martinez-Gomez, P., Ortega, E., Sanchez-Perez, R., Dicenta, F., Dandekar, A. M., Alonso, J. M., Socias i Company, R. Lopez, M., Batlle, I., and Gradziel, T. M. 2003.** Identification of self-incompatibility alleles in almond and related *Prunus* species using PCR. *Acta Horticulturae* 622: 397-401.
- Martinez-Gomez, P., Sanchez-Perez, R., Rubio, M., Dicenta, F., Gradziel, T. M., and Sozzi, G. O. 2005.** Application of recent biotechnologies to *Prunus* tree crop genetic improvment. *Cien. Inv. Agr.* 32(2): 55-78.
- Ma, R. C., and Oliveira, M. M. 2001.** Molecular cloning of the self-incompatibility genes *S1* and *S3* for almond (*Prunus dulcis* cv. Ferragnes). *Sex Plant Reproduction* 14: 163-167.

- McClure B. A., Haring, V., Ebert, P. R., Anderson, M. A., Simpson, R. J., Sakiyama, F., and Clarke, A. E. 1989.** Style self-incompatibility gene products of *Nicotiana glauca* are ribonucleases. *Nature* 342: 955–957.
- Ortega, E., Mousavi, D. J., and Dicenta, F. 2009.** Morphological and molecular characterization of Iranian almond cultivars and their implications for breeding. Abstract Book of V International Symposium on Pistachios and Almonds. Turkey. Page 210.
- Rahemi, A., Fatahi, R., Ebadi, A., Taghavi, T., Hassani, D., Gradziel, T., and Chaparro, J. 2010.** Genetic variation of S-alleles in wild almonds and their related *Prunus* species. *AJCS* 4(8): 648-659.
- Sanchez-Perez, R., Dicenta, F., and Martinez-Gomez, P. 2004.** Identification of S-alleles in almond using multiple-PCR. *Euphytica* 138: 263-269.
- Silva, N. F., and Goring, D. R. 2001.** Mechanisms of self-incompatibility in flowering plants. *Cell. Mol. Life Sci.* 58: 1988-2007.
- Socias i Company, R. 1990.** Breeding self-compatible almonds. *Plant Breeding Review* 8: 313-338.
- 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.
- Tao, R., Yamane, H., Sassa, H., Mori, H., Gradziel, T. M., Dandekar, A. M., and Sugiura, A. 1997.** Identification of stilar RNases associated with gametophytic self-incompatibility in almond (*Prunus dulcis*). *Plant Cell Physiology* 38: 304–311.
- Wunsch, A., and Hormoza, J. I. 2004.** Molecular evaluation of genetic diversity and S-allele composition of local Spanish sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 635-641.