

مقاله پژوهشی

## شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در ژنوتیپ‌های گوجه سبز (*P.cerasifera*) با استفاده از تکثیر آلل‌ها به روش واکنش‌های زنجیره‌ای پلی‌مرز

محی‌الدین پیرخضری<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۸/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۲)

### چکیده

گوجه سبز از مهمترین محصولات نوبرانه کشور است. این محصول دیپلوئید و خودناسازگار می‌باشد و برای تشکیل میوه به گرده‌افشانی و لقاح نیاز دارد. در این تحقیق آلل‌های خودناسازگاری ۲۰ رقم بومی با استفاده از ۷ جفت آغازگر ژن‌های S-RNase و SFB با روش PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. با استفاده از جفت آغازگر PC2consFD و EM PC3consRD/EM، هفده باند با اندازه‌های ۴۶۵ تا ۱۷۵۹ جفت باز مشاهده شد که تعداد نه باند تکثیر شده جدید داشتند که می‌توانند پس از توالی‌یابی کاندیدای آلل جدید باشند. بیشترین تعداد آلل تکثیر شده مربوط به آغازگرهای جفت اینترون EM-PC2F & EM-PC5R و سپس اینترون دوم روی ژن S-RNase به ترتیب با ۲/۶ و ۲/۵ آلل برای هر آغازگر و روی ژن متناظر آن (SFB) برای دانه گرده با ۲/۵۵ آلل برای هر آغازگر بود. در بین ژنوتیپ‌ها بیشترین میانگین آلل تکثیر شده به ترتیب مربوط به سیف (۳/۵۷)، گوجه قمی (امیدبخش) (۳/۱۴) و دهنو (۳/۱۴) و کمترین تعداد مربوط به ژنوتیپ‌های رضائیه (۰/۷) و بنفش (۱) بود. نتایج بررسی باغی گرده‌افشانی با گرده خودی در مقایسه با گرده‌افشانی آزاد نشان داد که اغلب گوجه‌ها خودناسازگارند، اما ژنوتیپ‌های دهنو، گالو به ترتیب ۶/۴ و ۵ درصد و ژنوتیپ‌های سلطانی رضائیه، سیف و سنت جولین حدود ۲/۷ درصد خودباروری داشتند. بیشترین فراوانی آللی مربوط به S22 و SII بود. در قمی، ۴ آلل و رضائیه، یک آلل مشاهده شد و با دو ژنوتیپ ملایر و سیاه، آلل‌های متفاوتی داشتند و می‌توانند بعنوان گرده‌زا برای هم‌دیگر استفاده شوند.

**کلمات کلیدی:** آلل‌های خودناسازگاری، خودگرده‌افشانی، گوجه سبز، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز

۱- استادیار پژوهش پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات ترویج و آموزش کشاورزی تهران، ایران.

\* پست الکترونیک: pirkhezri50mohi@gmail.com

## مقدمه

گوجه سبز با نام علمی *Prunus cerasifera* متعلق به خانواده Rosaceae، میوه‌ای کوچک و گرد غنی از انواع ویتامین‌ها که بصورت نارس، رسیده و خشکبار مورد استفاده است (پیرخضری، ۱۳۹۴؛ یوسنیک<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۹؛ مانگاناریس<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). اهمیت اقتصادی میوه در نوبرانه بودن و جلوگیری از بیماری‌هایی مانند چربی خون بالا، پیری سلول و سرطان است (سستراس<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۷). میزان تولید جهانی آلو و گوجه ۱۲/۰۱۴ میلیون تن در سطح ۲۶۰۲ هزار هکتار بود. چین با (۶/۷۸۸ هزارتن) بیش از پنجاه درصد تولید دنیا در مقام نخست و سپس کشورهای شرق اروپا مانند رومانی و صربستان در مقام‌های بعدی قرار می‌گیرند. ایران با تولید ۳۱۳ هزار تن در رده پنجم جهان قرار دارد (فائو، ۲۰۲۱). خودناسازگاری مهمترین عامل ژنتیکی تأثیرگذار بر موفقیت گرده‌افشانی و میزان تشکیل میوه است. میوه‌دهی متأثر از چندین فاکتور ژنتیکی و محیطی (گو<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۹؛ سائوره<sup>۵</sup>، ۲۰۱۱؛ روک<sup>۶</sup>، ۱۹۷۵)، همزمانی دوره گلدهی (ورما و جیندال<sup>۷</sup>، ۱۹۹۷) و خودناسازگاری (کرین و لويس<sup>۸</sup>، ۱۹۴۲) است. خودناسازگاری در اکثر گیاهان به وسیله یک مکان ژنی چندآللی کنترل می‌شود. مکان ژنی ناسازگاری بسیار چندشکل بوده و در بعضی گونه‌ها ممکن است دارای بیش از صد آلل باشد (تاکایاما و ایزوگای، ۲۰۰۵). گوجه‌ها (میروبالان) (*P.cerasifera*) دیپلوئید هستند و به‌عنوان یک مدل ساده‌تر ارزیابی ناسازگاری در آلو عمل می‌کند (ساترلند<sup>۹</sup> و همکاران، ۲۰۰۳ a&b). آلل‌های S در گوجه‌ها با روش PCR بررسی شده و آنالیز فیلوژنتیک نشان می‌دهد که آلل‌های گوجه‌ها و آلل S آلو با هم ارتباط دارند و در گروه‌های یکسان مانند سایر آلل‌های S پرونوس‌ها قرار دارند (ساترلند<sup>۱۰</sup> و همکاران، ۲۰۰۴). برای مطالعه خود(نا)سازگاری و دگرناسازگاری از روش‌های گرده‌افشانی کنترل شده و

بررسی میزان تشکیل میوه، رشد لوله‌گرده در تخمدان (کوشش‌صبا، ۱۳۸۴؛ کائوفمن و رامپونن<sup>۱۱</sup>، ۲۰۰۲) و روش‌های مولکولی مبتنی بر واکنش‌های زنجیره‌ای پلی-مرز (ایشیمیزو<sup>۱۲</sup> و همکاران، ۱۹۹۹؛ گو و همکاران، ۲۰۰۹؛ موتا<sup>۱۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۷؛ کوشش‌صبا، ۱۳۸۴) یا آزمایشات بیوشیمیایی نظیر تجزیه گلیکوپروتئین‌های خامه (S-RNase) استفاده می‌شود (نوریوکا<sup>۱۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۷؛ تومیموتو<sup>۱۵</sup> و همکاران، ۱۹۹۶؛ مورفت<sup>۱۶</sup> و همکاران، ۱۹۹۲). روش مبتنی بر PCR علاوه بر سرعت و دقت زیاد، هزینه کمتری نسبت به روش‌های سنتی داشته و تحت تأثیر شرایط محیطی و سن نونهالی قرار نمی‌گیرد و نیازمند امکانات و محیط بزرگ نیست (کمالی<sup>۱۷</sup> و همکاران، ۲۰۱۱).

ژن S ریبونوکلاز در خانواده رزاسه دارای ساختمان مشابهی است و شامل پنج منطقه حفاظت شده (C1-C5) و یک منطقه با تنوع بالا که شامل دو اینترون است. خودناسازگاری در جنس *Prunus* با دو ژن RNase-S و SFB در مکان ژنی locus-S کنترل می‌شود (یوشیجیما<sup>۱۸</sup> و همکاران، ۱۹۹۸). وضعیت سازگاری در آلوه‌های ژاپنی و گوجه‌ها (دیپلوئید) به صورت کاملاً خونسازگار و در آلوه‌های اروپایی (هگزاپلوئید) خود سازگاری کامل یا خودناسازگاری وجود دارد. (هگداس و هالاس<sup>۱۹</sup>، ۲۰۰۶) در آلوه‌های ژاپنی خودسازگاری یک پدیده استثنایی است و پیشنهاد شده آلل S<sub>e</sub> مسئول خودسازگار می‌باشد (سزابو<sup>۲۰</sup>، ۲۰۰۳). اولین آلل S در آلو ژاپنی (رقم سوردوم) گزارش شده است (یمن و همکاران<sup>۲۱</sup>، ۱۹۹۹). در آلوه‌های ژاپنی تنوع آلل‌های S را با استفاده از آغازگرهای طراحی شده از توالی‌های حفاظت شده S-RNase را گزارش کرده‌اند. در پژوهشی ۱۴ آلل S متفاوت شناسایی شدند و دریافتند که ژن S-RNase آلوی ژاپنی همانند دیگر گونه‌های جنس پرونوس دارای دو

11. Kaufmane and Rumpunen,  
12. Ishimizu  
13. Mota  
14. Norioka  
15. Tomimoto  
16. Murfett  
17. Kamali  
18. Ushijima  
19. Hegedus and Halasz  
20. Szaboo  
21. Yaman

1. Usenik  
2. Manganaris  
3. Sestras  
4. Gu  
5. Saure  
6. Ruck  
7. Verma and Jindal  
8. Crane and Lewis  
9. Sutherland  
10. Stherland

میکرولیتر رسانده شد. در این تحقیق از هفت جفت آغازگر عمومی اینترون اول، اینترون دوم و جفت اینترون جهت تکثیر آل‌های خودناسازگاری ژن S-RNase استفاده گردید (جدول ۲ و شکل ۱).

#### واکنش PCR

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدل Master cycler gradient ساخت کشور آلمان در حجم ۱۷ میکرولیتر، شامل ۳ میکرولیتر (غلظت ۱۵ نانوگرم در میکرولیتر) DNA ژنومی، ۱/۵ میکرولیتر از غلظت ۵ میکرومولار هر آغازگر، ۷/۵ میکرولیتر از محلول کیت PCR، ۳/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر تهیه شد (پیرخضری، ۱۳۹۹).

#### شرایط تکثیر PCR

چرخه حرارتی شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه و به مدت ۲ دقیقه، ۳۵ سیکل حرارتی که که برای برخی آغازگرها ۱۰ چرخه اول سیکل حرارتی به صورت Touch Down برنامه‌ریزی شده بود در هر چرخه دور اول با کاهش یک درجه دما به دمای اتصال واقعی رسید. این کار تا حدودی از ایجاد باندهای کاذب می‌کاهد. در ۲۵ سیکل بعد دمای اتصال ثابت (بسته به دمای اتصال آغازگر متفاوت بود) و زمان آن نیز متغیر بود (پیرخضری، ۱۳۹۹).

#### شرایط الکتروفورز

باندهای تکثیری محصول PCR روی ژل ۱/۵ درصد آگارز (تهیه شده با بافر TAE (IX) و در تانک الکتروفورز (Bio-Rad, USA) با ولتاژ ۷۵ در مدت ۳/۵ ساعت جداسازی شدند (پیرخضری، ۱۳۹۹).

#### رنگ‌آمیزی و تعیین اندازه باندهای تکثیر شده

جهت رنگ‌آمیزی ژل‌ها از ماده ژل‌رد (Gel Red, Biotium, USA شماره کاتالوگ ۴۱۰۰۳) استفاده گردید که فاقد مشکلات و آلودگی‌های اتیدیوم‌برماید بود (پیرخضری، ۱۳۹۹). اندازه باندهای تکثیر شده در گونه‌ها، ژنوتیپ‌ها و ارقام گوجه سبز با استفاده از نشانگر اندازه یک کیلو جفت بازی (فرمنتاز شمار کاتالوگ ۰۳۱۳) برای باندهای با سایز بزرگ و ۱۵۰۰ جفت بازی با فاصله باندهای ۵۰ و ۱۰۰ جفت باز (ساخت شرکت سیناکلون ایران) برآورد شد. اندازه باندها با نرم افزار در مقایسه با لدر

اینترون می‌باشد (بپو<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). تاکنون ۲۷ آل S در آلودگی ژاپنی گزارش شده است (ساپیر<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۸؛ گوئرا<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۹؛ گوئرا و همکاران، ۲۰۱۲) در جهان به دلیل اهمیت این میوه، شناسایی آل‌های خودناسازگاری بر روی آل‌های ژاپنی متمرکز است. در گوجه‌ها و آل‌های اروپایی گزارشات انگشت شماری در این خصوص وجود دارد (ساترلند و همکاران، ۲۰۰۳؛ پیرخضری، ۱۳۹۹؛ پیرخضری و همکاران، ۱۳۹۳). تعیین خودناسازگاری برای پیش‌بینی گرده‌زای مناسب در ژنوتیپ‌های امیدبخش و ارقام بومی، جهت اطمینان در تلاقی‌ها، احداث و افزایش عملکرد باغ‌های تجاری ضروری است (لوپز<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۶). ایمانی و همکاران (۱۳۹۳) به بررسی آل‌های خودناسازگاری در دورگ‌های بادام پرداختند. راحمی و همکاران (۲۰۱۰) آل‌های خودناسازگاری را در ارقام و ژنوتیپ‌های بومی کشور مورد ارزیابی قرار دادند. هدف از این پژوهش تعیین خودناسازگاری در ارقام بومی و ژنوتیپ‌های امیدبخش گوجه سبز موجود در کشور با استفاده از روش مبتنی بر PCR و همچنین ارزیابی باغی خود(نا)سازگاری آن‌ها می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

##### مواد گیاهی

در این تحقیق ۲۰ ژنوتیپ و رقم بومی گوجه سبز (جدول ۱) موجود در کلکسیون ملی ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌شهر، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی جهت تعیین آل‌های خودناسازگاری با روش واکنش زنجیره پلی‌مراز مورد ارزیابی قرار گرفتند. همچنین وضعیت خود(نا)سازگاری ژنوتیپ‌ها در شرایط باغ مورد بررسی قرار گرفت.

##### استخراج DNA

برای استخراج DNA از روش مورای و تامپسون<sup>۵</sup> (۱۹۸۰) با اندکی تغییر انجام گردید. جهت تعیین کمیت و کیفیت از ژل آگارز و نانودراپ مدل (Thermo Scientific, 1000) استفاده شد. غلظت DNA در نمونه‌ها به ۱۵ نانوگرم بر

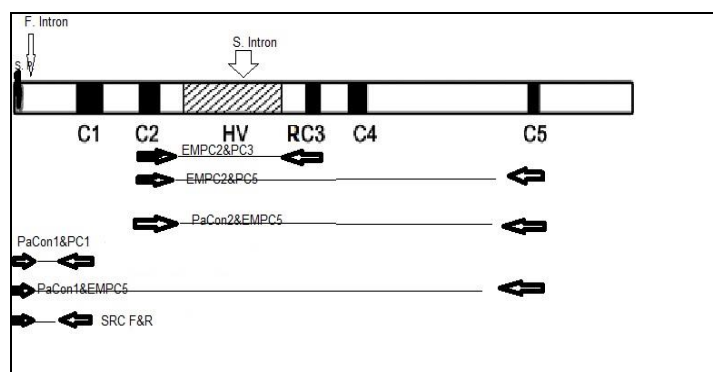
1. Beppu
2. Sapir
3. Guerra
4. Lopez
5. Murray and Thompson

جدول ۱- ارقام و ژنوتیپ‌های گوجه سبز مورد آزمایش در این تحقیق

ردیف	ژنوتیپ/ارقم	منشا-استان	ردیف	ژنوتیپ/ارقم	منشا-استان
۱	گوجه وحشی	کرج-البرز	۱۱	دهنو	کرماتشاه
۲	قمی	قم	۱۲	ملایر	ملایر-همدان
۳	برقان	برغان-کرج-البرز	۱۳	سیف دیررس	البرز
۴	کاشان	کاشان-اصفهان	۱۴	زرد شاهرود	شاهرود-سمنان
۵	تبریز	تبریز-آذر شرقی	۱۵	<i>P.tomentosa</i>	تهران
۶	سلطانی رضائیه	ارومیه-آذر غربی	۱۶	سنت جولین	تهران
۷	سیاه	کرج-البرز	۱۷	آلو بنفش	کرج-البرز
۸	محلات	محلات-مرکزی	۱۸	رضائیه	ارومیه-آذر غربی
۹	گالو	کرج-البرز	۱۹	آلوچه سفید	شیراز-فارس
۱۰	قرمز آلوچه	طالقان-البرز	۲۰	سیف	کرج-البرز

جدول ۲- توالی‌های نوکلئوتیدی آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده در تکثیر آل‌های S ارقام و ژنوتیپ‌های گوجه سبز

نام آغازگر	نوع آغازگر	توالی آغازگر	دمای اتصال	منابع
Primer name	Primer type		آغازگ	References
EM-PC2consFD	پیش رو	5'-TCAC(A/C)AT(C/T)CATGGCCTATGG-3'	۵۸	ساترلند و همکاران، ۲۰۰۴
EM-PC5consRD	معکوس	5'-CAAAATACCACTTCATGTAACA(G/A)C-3'	۵۸	ساترلند و همکاران، ۲۰۰۴
EM-PC3consRD	معکوس	5'-A(A/T)(C/G)T(A/G)CC(A/G)TG(C/T)TTTGTCCATTC-3'	۵۸	ساترلند و همکاران، ۲۰۰۴
PaConsI-FD	پیش رو	5'-(C/A)CTTGTCTTGG(C/G)TTT (T/C)GC TTTCTT C-3'	۵۸	اتحادپور و همکاران، ۱۳۹۱
EM-PC1consRD	معکوس	5'-GCC A(C/T)T GTT G(A/C)A CAA A(C/T)T GAA-3'	۵۸	اتحادپور و همکاران، ۱۳۹۱
SFBc-FD	پیش رو	5'-TCGACATCCTAGTAAGACTACCTGC-3'	۵۸	ویلانکوف، ۲۰۰۶
SFBc-RD	معکوس	5'-ATTTCTTCACTGCCTGAATCG-3'	۵۸	ویلانکوف، ۲۰۰۶
SRc-FD	پیش رو	5'-CTCGCTTTCCTTGTCTTGC-3'	۵۸	رومرو، ۲۰۰۴
SRc-RD	معکوس	5'-GGCCATTGTTGCACAAATTG-3'	۵۸	ویلانکوف، ۲۰۰۶
PaConsII-FD	پیش رو	5'-GGCCAAGTAATTATTCAAACC-3'	۵۵	سانولد و همکاران، ۲۰۰۳، ۲۰۰۳
PaConsII-RD	معکوس	5'-CA(T/A)AACAAA(A/G)TACCACTTCATGTAAC-3'	۵۵	سانولد و همکاران، ۲۰۰۳، ۲۰۰۳



شکل ۱- نواحی تکثیر شده توسط آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش (پیرخضری، ۱۳۹۹)

آل‌های S آلو که توالی آنها در NCBI گزارش گردیده‌اند، بررسی و با اندازه باندهای بدست آمده در این مطالعه برای هر جفت آغازگر مقایسه شدند. مطالعات مزرع‌های: برای تعیین خود(نا)باروری، از دو روش گرده‌افشانی ایزوله (خودگرده‌افشانی طبیعی و مصنوعی) و

تعیین گردید. فواصل طی شده باندها با استفاده از نرم‌افزار Quantity one شرکت Bio-Rad بدست آمد و با استفاده از نرم‌افزار اکسل و رگرسیون فاصله طی شده باندهای نشانگر (Y) بر اندازه باندهای نشانگر (X) برازش شد و فرمول مربوطه بدست آمد (پیرخضری، ۱۳۹۹). اندازه

۱۳۹۱؛ هگداس و هالاسز، ۲۰۰۶؛ گوئرا و همکاران، ۲۰۰۹). گوجه‌ها از نظر مصرف میوه اهمیت کمتری در دنیا دارند و تحقیقات آل‌های خودناسازگاری در خصوص آنها محدود است لذا در این تحقیق نامگذاری آل‌ها با استفاده از این آغازگر و بر مبنای آل‌های ژاپنی صورت گرفته است و پیشنهاد می‌گردد در تحقیقات آتی نیز از همین سیستم نامگذاری استفاده گردد. در پژوهش انجام شده توسط اتحادپور و همکاران (۱۳۹۱) که مخلوطی از آل‌های ژاپنی و گوجه‌ها، مورد بررسی قرار گرفته است نیز بر همین اساس نامگذاری انجام گرفته است. ایراد این نامگذاری در این است که دو باند هم اندازه در دو گونه متفاوت که با یک نام هم معرفی شده‌اند، ممکن است دارای توالی‌های متفاوتی باشند در این صورت باید توالی یابی انجام و تفکیک شود. این آغازگرها بر اساس اینترون دوم و مناطق حفاظت شده دوم و سوم S-RNase جنس پرونوس در ایستگاه ایست‌مالینگ انگلستان طراحی شده‌اند (یوشیجیما و همکاران، ۲۰۰۴؛ ساترلند و همکاران، ۲۰۰۴) که نواحی حفاظت شده دوم و سوم را تکثیر می‌کنند (جدول ۲، شکل ۱). با استفاده از این جفت آغازگر ۱۷ باند با اندازه‌های ۴۶۵ (آلوچه سفید) تا ۱۷۵۹ (گوجه سبز قمی) جفت باز در ۲۰ ژنوتیپ و رقم گوجه سبز مشاهده شد (جدول ۲). بر اساس اندازه باند آل‌های معرفی شده در منابع بانک ژن مانند NCBI و سایر مطالعات، آل‌های خودناسازگاری نامگذاری شد (اتحادپور و همکاران، ۱۳۹۱). تعداد نه باندهای تکثیر شده در این آزمایش معادلی از نظر اندازه در منابع نداشتند که می‌توانند پس از توالی‌یابی کاندیدای آل جدید باشند و با اعداد لاتین نمایش داده شده‌اند. با این آغازگر سه ژنوتیپ چهار باند، پنج ژنوتیپ سه باند، ۱۱ ژنوتیپ دو باند و یک ژنوتیپ یک باند داشتند (جدول ۲). در پژوهش دیگر که روی ژنوتیپ‌های آلو و گوجه انجام شد تعداد ۲۳ باند با این آغازگرها که اندازه آن‌ها بین ۳۲۰ تا ۱۸۳۰ بود در ۴۰ ژنوتیپ مشاهده شد (اتحادپور و همکاران، ۱۳۹۱). همچنین در گونه‌های بادام و برخی گونه‌های پرونوس اندازه باندها بین ۸۰ تا ۲۸۷۲ جفت باز گزارش شده است (اورتگا و همکاران، ۲۰۱۶؛ راحمی و همکاران، ۲۰۱۰). جفت آغازگر دژنره PaConsI-F/ EM PC5consRD که جفت اینترون را تکثیر می‌کند، تعداد ۱۹ باند در محدوده ۱۹۲۶-۲۶۳ جفت باز در ژنوتیپ‌های مورد بررسی ایجاد

گرده‌افشانی آزاد استفاده گردید. به این منظور روی هر یک از سه درخت، چهار شاخه به طول ۴۰ سانتی‌متر شامل اسپورها و در چهار جهت جغرافیایی آن (میانگین تعداد گل در هر شاخه بسته به ژنوتیپ، تراکم گل و اسپور متغیر بود)، یک هفته قبل از مرحله بالونی انتخاب و غیر از شاخه‌های مربوط به تیمار گرده‌افشانی آزاد که به عنوان شاهد، بدون ایزوله‌کردن در نظر گرفته شدند، بقیه شاخه‌ها به‌منظور جلوگیری از گرده‌افشانی آزاد و ناخواسته با کیسه‌های پنبه‌ای (ململ) ایزوله شدند. جهت خودگرده افشانی مصنوعی، جمع‌آوری دانه گرده، در زمانی که جوانه‌های گل در مرحله بالونی بودند، انجام شد. در خودگرده‌افشانی مصنوعی، گل‌های ایزوله شده با دانه‌های گرده جمع‌آوری شده از همان رقم و با استفاده از پنبه‌های گوش پاک‌کن (هر خلال مخصوص یک ژنوتیپ بود) گرده‌افشانی در زمان تمام‌گل دوبار با فاصله ۲۴ ساعت انجام شد (همه شاخه‌های ایزوله خودگرده‌افشانی شدند). تعداد گل‌های گرده‌افشانی شده در هر شاخه ایزوله و گرده‌افشانی آزاد شمارش گردیدند. میوه‌های اولیه پس از ریزش گلبرگ و گل‌های بارور نشده و ناقص شمارش (چهار هفته پس از گرده‌افشانی) گردید و میوه نهایی زمان برداشت گوجه سبز ملاک قرار گرفت. تشکیل میوه نهایی نسبت میوه به تعداد گل اولیه بصورت درصد محاسبه شد (هارتمن و نئومولر، ۲۰۰۹). از روش‌های چندمتغیره آماری شامل تجزیه کلاستر و تجزیه به عامل‌های اصلی جهت گروه‌بندی استفاده شد.

## نتایج و بحث

با به کار بردن شش جفت آغازگر مربوط به مکان ژن S-RNase و یک جفت آغازگر مربوط به مکان SFB (SLF) تنوع بالایی از آل‌های ناسازگاری در ارقام بومی و ژنوتیپ‌های گوجه سبز مورد بررسی مشاهده شد. در مطالعات قبلی آل‌های گزارش شده بر اساس اندازه باندهای بدست آمده از آغازگرهای دژنره EM PC2 consFD & EM PC3consRD (اورتگا<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۵؛ اتحادپور و همکاران، ۱۳۹۱؛ رحیمی و همکاران، ۲۰۱۰) و بر مبنای آل‌هایی که برای آل‌های ژاپنی معرفی شده نامگذاری ارایه گردیده است (اتحادپور و همکاران،

1. Hartmann and Neumuller  
2. Ortega

است و این گونه دیپلوئید می‌باشد که بایستی برای هر مکان آل S دو باند تکثیر گردد که فقط در گوجه وحشی و برقان قرمز آلوچه (بجز SFB) و کاشان برای همه آغازگرها دو آل تکثیر گردیده است، اندازه این ژنوتیپ‌ها کوچک و شکل ظاهری برگ می‌تواند نشان از دیپلوئید بودن آنها باشد (جدول ۲). بیشترین تعداد آل تکثیر شده مربوط به آغازگرهای جفت اینترون (-EM PC2F & EM-PC5R) و سپس اینترون دوم روی ژن S-RNase به ترتیب با ۲/۶ و ۲/۵ آل برای هر آغازگر و روی ژن متناظر آن (SFB) برای دانه گرده با ۲/۵۵ آل برای هر آغازگر بود (جدول ۲). در بین ژنوتیپ‌ها بیشترین میانگین آل تکثیر شده به ترتیب مربوط به سیف (۳/۵۷)، گوجه امیدبخش قمی (۳/۱۴) و دهنو (۳/۱۴) و کمترین تعداد مربوط به ژنوتیپ‌های رضائیه (زودرس ترین ژنوتیپ امیدبخش ۰/۷) و بنفش (۱) بود (جدول ۴). نتایج بررسی باغی گرده‌افشانی با گرده خودی در مقایسه با گرده‌افشانی آزاد نشان داد که اغلب گوجه‌ها خودناسازگارند و ژنوتیپ‌های با درصدی از خودباروری ممکن است به گونه‌های خویشاوند با سطوح پلوئیدی بالاتر تعلق داشته باشند (شکل ۲). اگر گوجه‌های درشت و تجاری کشور را دیپلوئید بدانیم تعداد آل‌های بیش از دو عدد را در آغازگرها بایستی به لغزش آغازگر در حین تکثیر و ایجاد باندهای مضاعف و کاذب بدانیم و بر اساس تقسیم‌بندی‌ها جزو گرین‌گیج‌ها و آلوهای اروپایی بدانیم (رایجر، ۲۰۰۶؛ هارتمن و نثومولر، ۲۰۰۹). ارقام هگزاپلوئید می‌توانند بیش از دو آل داشته باشند. براساس گزارش مظفریان گونه‌های دیگر نظیر (*P.divaricate*، *P.insititia*، *P.spinosa*) نیز بصورت خودرو در جنگل‌های شمال و دره‌های شمال‌غرب و غرب کشور در دامنه‌های البرز و زاگرس وجود دارد (مظفریان، ۱۳۸۹) که سطوح پلوئیدی از دو تا شش را دارا باشند (پیرخضری، ۱۳۹۴) و احتمال اینکه ژنوتیپ‌های دهنو، سیف و قمی به گونه‌های دیگر متعلق باشند و یا سطوح پلوئیدی بالاتری داشته باشند وجود دارد. اگر گوجه‌های تجاری و درشت هگزاپلوئید باشند می‌بایستی دامنه‌ای از خودباروری کامل تا خودناسازگاری کامل در بین آنها مشاهده شود اما در این تحقیق طی دو سال گرده‌افشانی با گرده خودی، نشان از خودناسازگاری کامل ژنوتیپ‌های امیدبخش تجاری مورد

کرد. با استفاده از این جفت آغازگر در یک ژنوتیپ پنج باند، در چهار ژنوتیپ چهار باند، در پنج ژنوتیپ سه باند و در هشت ژنوتیپ دو باند مشاهده شد و در دو ژنوتیپ باندی مشاهده نشد (جدول ۲). همچنین بر اساس مطالعات قبلی در آلو با استفاده از جفت آغازگر دژره PaConsI- F/EM PC5consRD تعداد ۱۴ باند با اندازه‌های ۲۴۹۵-۸۷۵ جفت باز در ۴۰ ژنوتیپ مورد بررسی مشاهده شد. در این مطالعه تعداد ۲۵ ژنوتیپ دو باند، ۱۱ ژنوتیپ یک باند و یک ژنوتیپ بدون باند گزارش شده است (اتحادپور و همکاران، ۱۳۹۱). دلیل این تفاوت‌ها را می‌توان به تعداد ژنوتیپ‌ها، زمینه ژنتیکی ژنوتیپ‌ها نسبت داد. هرچه ژنوتیپ‌ها بیشتر باشد تعداد باندهای شناسایی شده بیشتر است. همچنین در سطوح پلوئیدی بالاتر در ژنوتیپ‌ها، تعداد باندهای بیشتری تکثیر می‌شود. در ژنوتیپ‌های مورد بررسی برای آغازگرها دو باند ایجاد شده که نشان دهنده هتروزیگوت بودن مکان S آن‌ها می‌باشد در حالی که تعدادی دیگر فقط یک باند نشان داد که ممکن است به دلیل هموزیگوت بودن در مکان S آن باشد یا آل دوم با استفاده از این جفت آغازگر قابل شناسایی نباشد. عدم امکان شناسایی تمام آل‌های خودناسازگاری با استفاده از جفت آغازگرهای عمومی (PaCons/EM PC) به روش PCR در آلوهای ژاپنی توسط اتحادپور و همکاران (۱۳۹۱) و در بادام توسط راحمی و همکاران (۲۰۱۰) در بادام، ایمانی و همکاران (۱۳۹۳) در بادام گزارش شده است. اندازه باندهای بزرگتر به دست آمده با استفاده از جفت آغازگر PaConsI-F/ EM PC5consRD در مقایسه با باندهای حاصل از جفت آغازگر EM PC2consFD/ EM PC3consRD به این دلیلی بود که این جفت آغازگر ناحیه وسیع‌تری از ژن S-RNase را تکثیر کرده است که شامل اینترون اول و دوم می‌باشد (شکل ۱). چون اینترون دوم در ناحیه با تنوع بالا قرار دارد و اکثر آغازگرهای طراحی شده در این ناحیه قرار دارند (یوشیجیما و همکاران، ۱۹۹۸؛ سزابو، ۲۰۰۳) و برای شناسایی آل‌های S آلوها به کار رفته‌اند (اتحادپور و همکاران، ۱۳۹۱؛ یمن و همکاران، ۱۹۹۹، بپو و همکاران، ۲۰۰۳؛ گوئرا و همکاران، ۲۰۰۹). به عبارت دیگر تنوع آل‌های S بیشتر مربوط به تنوع اندازه اینترون دوم است و توالی‌یابی آل‌های S بر اساس این ناحیه بوده است. مظفریان (۱۳۸۹) گزارش نموده گوجه‌های از گونه *P.divaricate* (نام قدیم *P.cerasifera*)

جدول ۳- اندازه آلل در بانک ژن و فراوانی تعداد آلل مشاهده شده در ژنوتیپ‌های گوجه سبز

شماره	نوع آلل	اندازه باند جدید شناسایی شده	اندازه آلل همتراز در NCBI (bp)	فراوانی باندهای مشاهده شده
۱	*S <sub>I</sub>	۲۱۵		۱
۳	S <sub>k</sub> =S <sub>3</sub>		۳۲۷	۴
۴	S <sub>i</sub>		۴۳۰	۴
۵	S <sub>II</sub>	۳۰۳		۵
۶	S <sub>IV</sub>	۴۶۱		۳
۷	S <sub>h</sub>		۵۳۲	۳
۸	S <sub>22</sub>		۵۷۹	۵
۹	S <sub>24</sub>		۶۸۱	۲
۱۰	S <sub>19</sub>		۷۱۲	۳
۱۱	S <sub>23</sub>		۷۷۲	۲
۱۲	S <sub>m</sub>		۳۳۱	۲
۱۳	S <sub>III</sub>	۴۱۰		۲
۱۴	S <sub>X</sub>	۱۱۰۲		۲
۱۵	S <sub>c</sub> =S <sub>4</sub>		۱۱۸۸	۳
۱۶	S <sub>f</sub> =S <sub>6</sub>		۱۲۵۰	۳
۱۷	S <sub>d</sub>		۱۳۱۷	۱
۱۸	S <sub>VI</sub>	۸۵۲		۱
۱۹	S <sub>V</sub>	۶۲۶		۴
۲۰	S <sub>VII</sub>	۹۵۲		۱
۲۱	S <sub>VIII</sub>	۹۶۷		۱
۲۲	S <sub>IX</sub>	۱۰۵۹		۱

\*آلل‌های با اعداد یونانی جدید می‌باشند

بررسی دارد اما ژنوتیپ‌های دهنو، گالو به ترتیب ۶/۴ و ۵ درصد و ژنوتیپ‌های سلطانی‌رضائیه، سیف و سنت‌جولین حدود ۲/۷ درصد خودباروری داشتند که با مقایسه با میانگین تعداد آلل تکثیر شده در ژنوتیپ، نشان از سطوح پلوئیدی بالاتر دارد. هیچ کدام از این ژنوتیپ‌ها تجاری و مناسب تازه‌خوری بعنوان گوجه نیستند (شکل ۲). نیمه خودباروری آلوهای اروپایی هگزپلوئید بدلیل مکانیسم برهم کنش آلل‌های متفاوت است (کیائو<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۴). پس از آغازگر جفت اینترون بیشترین تعداد آلل تکثیر شده مربوط به آغازگر SFB است. این ژن عامل ناسازگاری در دانه گرده، چندشکلی بالایی داشته و در دانه گرده بیان می‌شد و به S-RNase متصل است (کائو و تسوکاموتو، ۲۰۰۴). که مطالعات دیگر نیز تنوع بالایی برای این ژن گزارش نموده‌اند. در جنس پرونوس ژن‌های (SFB) SLF چندشکلی همانند با ژن S-RNase مادگی نشان داد (مک‌کلار و فرانکلتن، ۲۰۰۶) که یک الگوی تلاقی اختصاصی S-هاپلوتاایپ (S-haplotype)

Specific Hybridization را نشان می‌دهد. این مکان هم مانند S-RNase تنوع بسیار بالایی را نشان می‌دهد. تجزیه توالی ۱۳ آلل ژن SLF در جنس پرونوس نشان‌دهنده دامنه‌های حفاظت‌شده و دامنه با تنوع بالا است (یوشیجیما و همکاران، ۲۰۰۴؛ ایکدا و همکاران، ۲۰۰۴). پروتئین‌های SLF و S-RNase اساس سیستم خود ناسازگاری (SI) هستند (کیائو و همکاران، ۲۰۰۴). در جنس پرونوس ناحیه S کمتر از ۷۰ کیلو جفت باز است (یوشیجیما و همکاران، ۲۰۰۴). در جنس پرونوس دو ژن SLF و S-RNase با فعالیت ریبونوکلفازی با تنوع بالا در این ناحیه حضور دارند (وانگ و همکاران، ۲۰۰۳؛ یوشیجیما و همکاران، ۲۰۰۴). فاصله بین این دو ژن در جنس پرونوس ۳۸۰ جفت باز تا ۴۹ کیلو جفت باز است (یامان و همکاران، ۲۰۰۳). اهمیت استفاده از آغازگرهای مختلف در شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در این تحقیق، تعیین توالی‌های متناظر بر اساس سطح پوشش ژن و تکثیر آنها است. در این تحقیق آلل S<sub>h</sub> با اندازه ۵۲۳ جفت باز معادل ۲۵۵ جفت باز با تکثیر آغازگر (اینترون اول) (ConsI-F& EM-PC1R)، ۵۹۹ جفت باز با

1. Qiao
2. Kao & Tsukamoto

هالاسز، ۲۰۰۶) (شکل ۴). هر یک از ژنوتیپ‌های کاشان و برقان بیشترین نزدیکی را با هم دارند و دارای آل‌های مشترک هستند. همچنین محلات و آلوچه سفید در نزدیکی هم قرار دارند این ژنوتیپ‌ها برای گرده‌افشانی بعنوان گرده‌افشان هم در باغ‌های تجاری توصیه نمی‌شوند. با توجه به این تجزیه ژنوتیپ‌های دور از هم به شرط دارا بودن همپوشانی گلدهی بعنوان گرده‌زا و یا برای کارهای اصلاحی بعنوان والدین به راحتی می‌توانند انتخاب شوند.

### نتیجه‌گیری کلی

شناسایی آل‌های خودناسازگاری و تسهیل در گزینش ژنوتیپ مطلوب برای گرده‌افشانی متقابل و برنامه‌های به‌زادی گوجه سبز از پژوهش‌های کاربردی است. با به‌کار بردن شش جفت آغازگر مربوط به مکان ژن S-RNase و یک جفت آغازگر مربوط به مکان SFB (SLF) تنوع بالایی از آل‌های ناسازگاری ارقام و ژنوتیپ‌های گوجه سبز مورد بررسی مشاهده شد. بر اساس نتایج بدست آمده تعداد ۸ باند معادل آن در بانک‌های ژن و منابع یافت نشد که می‌تواند پس از توالی‌یابی کاندیدای آل جدید باشند. ژنوتیپ‌های گالو، دهنو، سیف و سلطانی‌رضائیه و سنت جولین به ترتیب با میانگین آل تکثیر شده ۲/۷۱، ۳/۱۴، ۳/۵۷، ۲/۲۹ و ۲/۷۸ باند در هر آغازگر از ۲/۷ تا ۶/۵ درصد خودبارور بودند و احتمالاً سطوح پلوئیدی بالاتری دارند و اما گوجه سبزه‌های تجاری همگی خودناسازگار بودند. ژنوتیپ‌های امیدبخش گوجه سیاه (Sf Sm) و گوجه سبز قمی (Sh S22 S24 SIV)، محلات (Si Sk)، ملایر (SIXSIISc) و رضائیه رقم تازه معرفی شده با نام گلاب (SVIII) آل‌های متفاوتی دارند و بعنوان گرده‌زا برای هم قابل استفاده هستند. بخصوص رضائیه (گلاب) که زودرس‌ترین رقم است و اندازه نسبتاً کوچکی دارد و الی متفاوت دارد، بهترین گرده‌زا برای سایر ارقام است. برای تأیید نوع آل‌ها سایر روش‌های بررسی لوله‌گرده و تلاقی کنترل شده، الکتروفور پروتئین خامه و توالی‌یابی همراه با بررسی سیتولوژیکی سطوح پلوئیدی توصیه می‌شود.

### سپاسگزاری

از همکاری و مساعدت پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی کشور و

آغازگرهای (PaConsI-F& EM-PC5R) و ۲۵۰ جفت باز با آغازگرهای (اینترون دوم) (PaConsII-F&R) است (جدول ۴).

گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌ها بیشتر بر اساس صفات مرفولوژیکی و یا داده‌های مولکولی است. در این تحقیق با توجه به بکارگیری تعداد زیادی آغازگر گروه‌بندی نیز انجام گردید که یکی از شیوه‌های مناسب در تعیین قرابت، دوری و نزدیکی ژنوتیپ‌ها بر اساس مکان آللی مورد بررسی است. در این پژوهش ژنوتیپ به سه گروه تقسیم شدند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های سنت‌جولین، گالو، دهنو، آلو محلات، سیف، سیف‌دیررس، آلوچه سفید، سلطانی‌رضائیه، آلو تبریز، گوجه سبز قمی و سیاه است شاید نشان از منشا احتمالی یکسان باشند. هگداس و هالاسز، (۲۰۰۶) معتقدند فراوانی آل‌های S با منشا جغرافیایی گونه‌ها ارتباط دارد چرا که فراوانی آل‌های مناطق مختلف با هم متفاوت هستند. بعنوان نمونه در این تحقیق نیز آل S<sub>22</sub> در ارقام با منشا مرکز مانند قم، کاشان و البرز بیشتر مشاهده می‌شود (جدول ۴). در خصوص ژنوتیپ‌های آلو نیز پراکنش جغرافیایی و منشا ارقام در فراوانی آل‌ها دخیل هستند. در گروه دو *P.tomentosa*، گوجه وحشی، کاشان و گوجه برقان قرار گرفته‌اند که خصوصیات ظاهری همگی به تیپ وحشی (Wild Type) نزدیک‌تر هستند. ژنوتیپ‌های زرد شاهرود، بنفش، ملایر و گوجه‌رضائیه گروه سه را تشکیل داده‌اند همگی پربار، میوه با کیفیت دارند و ژنوتیپ‌های رضائیه و ملایر امیدبخش و بعنوان رقم در دست معرفی می‌باشند. در تقسیم‌بندی گروه‌های اصلی ژنوتیپ‌های با آل‌های مشابه در کنار هم قرار گرفته‌اند و در زیرگروه‌ها بخصوص ژنوتیپ‌هایی که در کلاستر بسیار به هم نزدیک هستند دارای آل‌های مشابه هستند (شکل ۳).

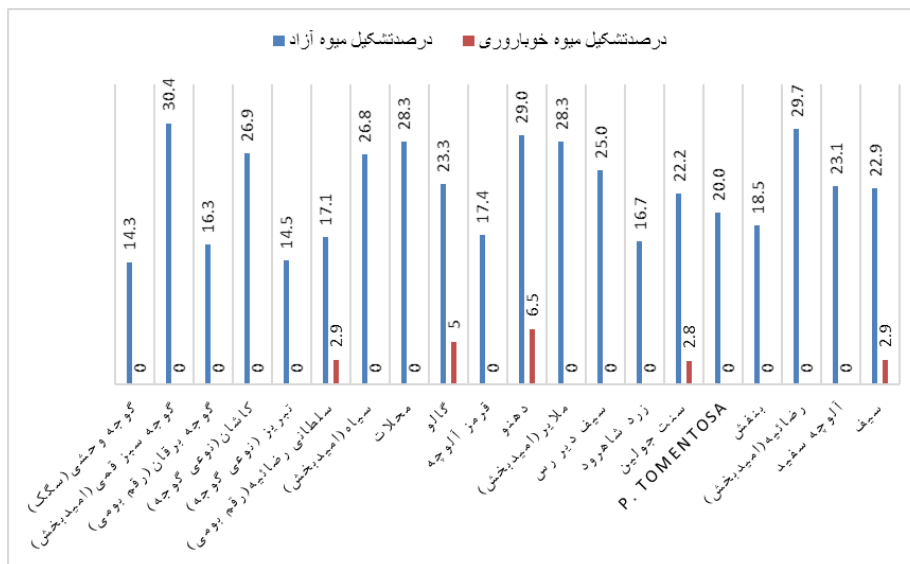
از تجزیه عامل‌ها جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و ارزیابی میزان تنوع بین آن‌ها استفاده می‌شود. کاربرد این روش برای انتخاب ژنوتیپ‌هایی است که با ارزش هستند (بیلماز و همکاران، ۲۰۰۹). نمودار دو بعدی که جهت گروه‌بندی و بررسی روابط بین نمونه‌ها ترسیم شد (شکل ۴) بیانگر فاصله بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه است. ژنوتیپ‌ها در پلات پراکنده شده‌اند، بیشتر ژنوتیپ‌ها در نزدیکی هم قرار گرفته‌اند که می‌تواند نشان‌دهنده آل‌های مشابه و موقعیت جغرافیایی یکسان باشد (هگداس و



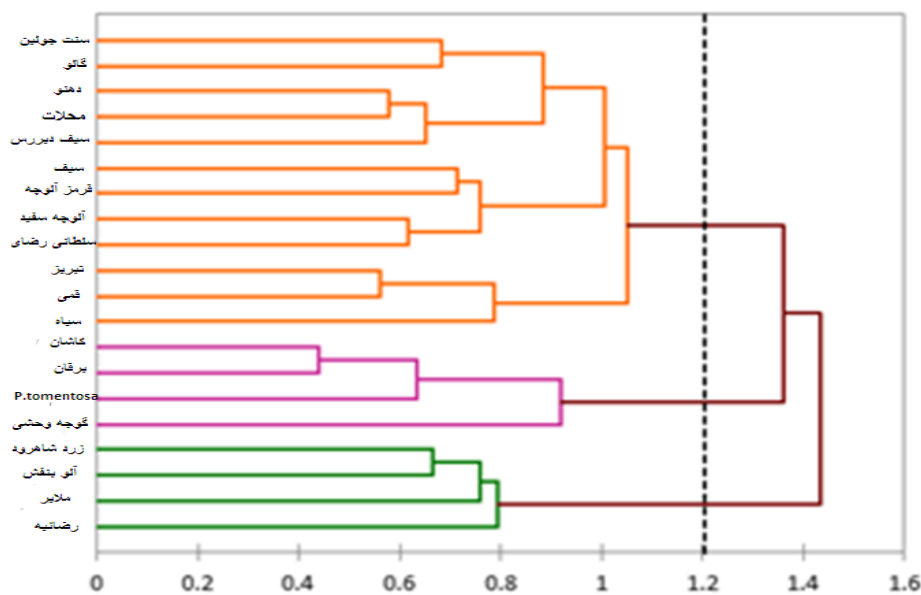
جدول ۴- طول باند S در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گوجه سبز در هفت جفت آغازگر

ژنوتیپ	آل EM-PC2F& EM-PC3R (bp) (اینترون دوم)	PaConsII-F&R (اینترون دوم)	SRC-F&R (اینترون اول)	SFBc-F&R	PaConsI-F&EM-PC5R (جفت اینترون)	EM-PC2F & EM-PC5R (اینترون دوم)	PaConsI-F & EM-PC1R (اینترون اول)	میانگین تعداد آلل تکثیر شده
گوجه وحشی (سگک)	S <sub>h</sub> S <sub>22</sub>	۲۵۰-۱۱۱۰	۴۰۹-۴۴۱	۶۴۱-۷۱۰	۵۹۹-۸۵۱	۸۲۷-۸۹۸	۲۵۵-۳۲۱	۲
گوجه سبز قمی (امیدبخش)	*S <sub>h</sub> S <sub>22</sub> S <sub>24</sub> S <sub>IV</sub>	۵۶۵-۹۴۸-۱۳۶۶	۳۸۷-۴۴۱	۳۲۱-۳۷۸- ۴۴۴-۵۹۴	۵۵۰-۵۹۹-۱۱۸۰- ۱۳۱۱-۱۶۳۷	۱۱۶۸-۱۷۵۹	۲۵۵-۲۸۵	۳/۱۴
گوجه برقان (رقم بومی)	S <sub>22</sub> S <sub>III</sub>	۵۶۵	۳۸۷-۴۰۹	۳۲۱-۳۷۸- ۴۴۴-۵۹۴	۶۴۲-۹۷۷	۷۷۲-۹۶۴	۲۲۸-۳۲۱	۲
کاشان (نوعی گوجه)	S <sub>22</sub> S <sub>VI</sub>	۷۵۷	۳۸۷	۴۴۴-۶۴۱	۶۴۲-۱۴۴۸	۹۶۴	۲۲۸-۳۲۱	۱/۵۷
تبریز (نوعی گوجه)	S <sub>22</sub> S <sub>I</sub> S <sub>V</sub>	۴۴۶-۶۴۶-۹۴۸	۲۱۱-۳۸۷	۳۲۱-۳۷۸- ۵۹۴	۲۶۳-۵۹۹-۶۴۲- ۱۳۱۱	۶۵۰-۹۶۴	۱۶۹-۲۸۵	۲/۵۷
سلطانی رضائیه (رقم بومی)	S <sub>k</sub> S <sub>d</sub>	۴۷۹	۴۲۶	۳۰۲-۳۶۵- ۴۱۰-۴۶۱-	۲۶۳-۱۰۹۷	-	۱۵۱-۲۳۳-۳۲۴-۵۱۸	۲/۲۹
سیاه (امیدبخش)	S <sub>f</sub> S <sub>m</sub>	-	۳۴۶-۳۸۷	۳۲۱-۵۹۴	۴۸۷-۱۰۵۰-۱۰۹۷- ۱۵۴۲	۶۵۰	۲۰۶-۲۸۵	۱/۸۶
محلالت (امیدبخش)	S <sub>i</sub> S <sub>k</sub>	-	۳۷۱-۴۰۹	۳۷۸-۵۹۴	۳۱۲-۴۸۷-۹۲۱- ۱۰۹۷	۶۵۰-۶۸۹-۱۱۰۸- ۱۲۶۸	۲۲۸-۲۸۵	۲/۲۹
گالو	S <sub>k</sub> S <sub>IV</sub> S <sub>V</sub>	۵۶۵-۶۸۲-۹۴۸	۳۸۷-۴۲۶	۳۲۱-۳۷۸- ۵۱۶	۶۴۲-۷۷۲-۹۷۷- ۱۰۹۷	۶۸۹-۱۱۰۸	۲۲۸-۲۵۵	۲/۷۱
قرمز آلوچه	S <sub>VII</sub> S <sub>c</sub>	۵۶۵	۳۷۱	۳۷۸-۵۹۴	۲۶۳-۱۰۵۰-۱۰۹۷	۱۷۵۹	۲۰۶-۲۲۸	۱/۷۱
دهنو	S <sub>19</sub> S <sub>m</sub> S <sub>k</sub> S <sub>23</sub>	۵۶۵-۶۰۳-۱۳۳۱	۳۷۱-۴۰۹- ۴۲۶	۴۲۳-۶۰۹	۲۶۳-۹۲۱-۱۰۹۷	۵۷۴-۶۲۲-۸۴۷- ۱۰۵۳	۲۷۱-۳۲۴-۳۶۴	۳/۱۴
ملایر (امیدبخش)	S <sub>IX</sub> S <sub>II</sub> S <sub>c</sub>	۴۷۹	۳۷۱	۶۵۸-۷۱۰	۲۶۳-۱۴۴۸-۱۹۲۶	۵۱۵	۲۷۱-۳۰۰	۱/۸۶
سیف دیر رس	S <sub>19</sub> S <sub>i</sub> S <sub>23</sub> S <sub>III</sub>	۴۷۹-۴۹۹-۶۴۶- ۹۴۸	۳۷۱	۶۵۸	۷۷۳-۹۲۱-۱۲۵۴	۶۲۲-۱۰۵۳	۲۷۱-۳۰۰	۲/۴۳
زرد شاهرود	S <sub>c</sub> S <sub>f</sub>	۴۷۹-۱۶۲۴	۲۱۱-۲۲۰	۴۱۰-۴۶۱- ۶۰۹	۹۲۱-۱۵۴۲	-	۱۶۹	۱/۷۱
سنت جولین	S <sub>II</sub> S <sub>IV</sub> S <sub>19</sub>	۴۴۶-۶۴۶	۳۲۷-۳۸۷- ۴۲۶	۳۷۸-۵۹۴	۶۴۲-۹۲۱-۱۴۴۸	۴۷۰-۵۹۴-۸۲۷- ۱۱۶۸	۲۲۸-۳۵۳	۲/۷۱
<i>P. tomentosa</i>	S <sub>h</sub> S <sub>V</sub>	۷۵۷	۳۴۶-۴۰۹	۳۷۸-۵۴۸	۶۴۲-۹۲۱	۹۶۴	۲۰۶-۲۲۸-۲۸۵	۱/۵۶
بنفش	S <sub>f</sub> S <sub>II</sub>	۴۷۹	۳۴۶	۶۰۹-۱۲۱۶	-	۵۱۵	۱	۱
رضائیه (امیدبخش)	S <sub>VIII</sub>	۴۷۹	۵۴۰	۶۰۹-۶۵۸	-	-	۳۲۴	۰/۷۱
آلوچه سفید	S <sub>II</sub> S <sub>I</sub>	۴۷۹-۴۹۹-۵۶۵- ۶۰۳-۶۴۶	۳۴۶-۶۸۷	-	۹۲۱-۱۰۹۷	۴۶۵-۵۱۵	۳۹۶	۲
سیف	S <sub>24</sub> S <sub>II</sub> S <sub>i</sub>	۴۱۲-۴۷۹-۵۶۵- ۷۵۷-۱۲۲۴	۲۱۱-۳۷۱- ۴۰۹-۴۲۶	۳۰۲-۳۲۱- ۳۷۸-۴۴۴- ۵۹۴	۴۸۷-۸۵۱	۵۹۴-۷۷۲	۲۰۶-۳۸۶	۳/۵۷
جمع تعداد آلل تکثیر شده	۵۰	۴۰	۳۷	۵۱	۵۲	۳۴	۳۷	۳۰۲
میانگین تعداد آلل	۲/۵	۲	۱/۸۵	۲/۵۵	۲/۶	۱/۷	۱/۸۵	-

\*آل‌های جدید با اعداد یونانی نشان داده شده است



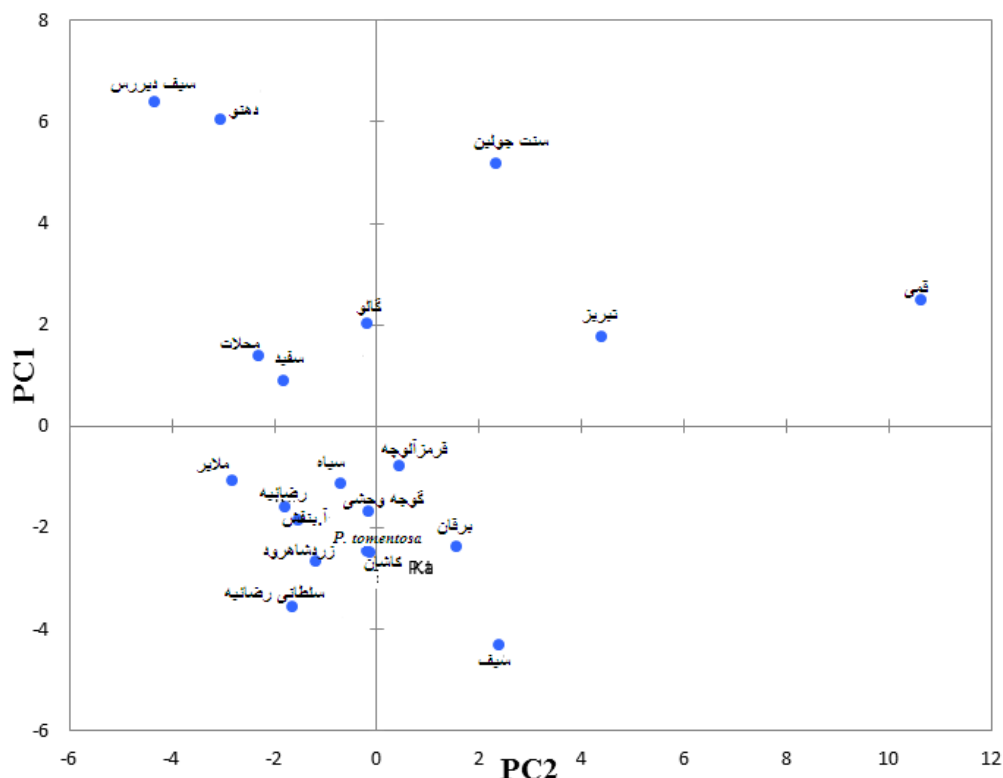
شکل ۲- درصد تشکیل میوه نهایی در گرده‌افشانی آزاد و با گرده خودی



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر ۲۰ ژنوتیپ گوجه بر اساس آل‌های خودناسازگاری

بخاطر فراهم نمودن شرایط این تحقیق کمال تشکر را دارم.

بخصوص جناب آقای دکتر داراب حسنی و همچنین رئیس موقت محترم ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال شهر جناب آقای دکتر داریوش آشکار و کارکنان ایستگاه



شکل ۴- موقعیت ژنوتیپ‌های مورد آزمون نسبت به هم با استفاده از تجزیه مؤلفه‌های اصلی بر اساس همه آغازگرها (مجموع دو فاکتور ۱۹.۲۹ درصد)

## منابع

- اتحادپور، م.، فتاحی‌مقدم، م.ر. و زمانی، ذ. ۱۳۹۱. شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در ژنوتیپ‌های آلو (تجاری و بومی) با استفاده از تکثیر آلل‌ها به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز. ژنتیک نوین، ۷(۱): ۴۷-۵۵.
- ایمانی، ع.، گودرزی، ح.، میری، س.م. و زین‌العابدینی، م. ۱۳۹۳. بررسی، شناسایی و توارث‌پذیری آلل‌های خودناسازگاری و خودسازگاری و صفات رویشی در دورگ‌های بادام با استفاده از نشانگرهای مولکولی و مورفولوژیک. زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، ۵(۲): ۲۹-۴۴.
- پیرخضری، م.، فتاحی‌مقدم، م.ر.، عبادی، ع.، حسنی، د. و عبدوسی، و. ۱۳۹۳. تعیین آلل‌های خودناسازگاری برخی از ارقام و ژنوتیپ‌های آلو ژاپنی (*Prunus salicina*) موجود در کشور با روش PCR. اولین کنگره بین‌المللی و سیزدهمین کنگره ژنتیک، تهران، ایران.
- پیرخضری، م. ۱۳۹۴. راهنمای کاربردی پرورش آلو و گوجه (ارقام، پایه‌ها و...). ترویج و آموزش کشاورزی، ۲۱۰ ص.
- پیرخضری، م. ۱۳۹۹. شناسایی آلل‌های خودناسازگاری در برخی ارقام تجاری آلو ژاپنی با استفاده واکنش زنجیره‌ای پلیمرز. مجله نهال و بذر، ۳۶(۴): ۵۰۹-۵۲۵.
- کوشش‌صبا، م. ۱۳۸۴. تعیین خودناسازگاری و دگرناسازگاری در برخی از ژنوتیپ‌های گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) با آزمایش‌های مزرعه‌ای و مولکولی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد. دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، ۱۱۰ ص.
- مظفریان، و. ۱۳۸۹. درختان و درختچه‌های ایران. فرهنگ معاصر، ۱۴۷۰ ص.
- Beppu, K., Takemoto, Y., Yamane, H., Yaegaki, H., Yamaguchi, M., Kataoka, I. and Tao, R. 2003. Determination of S-haplotypes of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) cultivars by PCR and cross-pollination tests. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 78(3): 315-318.
- Crane, M.B. and Lewis, D. 1942. Genetical studies in pears: III. Incompatibility and sterility. Journal of Genetics, 43: 31-43.

- FAO. 2021. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>
- Gu, Q.Q., Zhang, Q.L., Hu, H.J., Chen, Q.L. and Luo, Z.R. 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.
- Guerra, M.E., López-Corrales, M. and Wünsch, A. 2012. Improved S-genotyping and new incompatibility groups in Japanese plum. *Euphytica*, 186(2): 445-452.
- Guerra, M.E., Rodrigo, J., López-Corrales, M. and Wünsch, A. 2009. S-RNase genotyping and incompatibility group assignment by PCR and pollination experiments in Japanese plum. *Plant Breeding*, 128(3): 304-311.
- Hartmann, W. and Neumuller, M. 2009. Plum breeding. pp. 161-231. Mohan Jain, S. and Priyadarshan, P. M. (eds.) *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate species*. Springer New York
- Hegedús, A. and Halasz, J. 2006. Self-incompatibility in plums (*Prunus salicina* Lindl., *Prunus cerasifera* Ehrh. and *Prunus domestica* L.). A minireview. *International Journal of Horticultural Science*, 12(2): 137-140.
- Ikeda, K., Igc, B., Ushijima, K., Yamane, H., Hauck, N.R., Nakano, R., Sassa, H., Iezzoni, A.F., Kohn, J.R., and Tao, R. 2004. Primary structural features of the S haplotype-specific F-box protein, SFB, in *Prunus*. *Sexual Plant Reproduction*, 16, 235–243.
- 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.
- Kamali, K., Alonso, J.M., Socias, I., Company, R., Ebadi, A. and Fattahi, M.R. 2011. Identification of S-genotypes in almond progenies by NEPHGE and PCR. *Options Méditerranéennes*, 94:101-104–XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds.
- Kao, T. H. and Tsukamoto, T. 2004. The molecular and genetic bases of S-RNase-based self-incompatibility. *Plant Cell*, 16(SUPPL.): S72-S83.
- Kaufman, E. and Rumpunen, K. 2002. Pollination, pollen tube growth and fertilization in *Chaenomeles japonica* (Japanese quince). *Scientia Horticulturae*, 94(3-4): 257-271.
- López, M., Vargas, F.J. and Batlle, I. 2006. Self-(in) compatibility almond genotypes: a review. *Euphytica*, 150: 1-16.
- Manganaris, G.A., Vicente, A.R. and Crisosto, C.H. 2008. Effect of pre-harvest and post-harvest conditions and treatments on plum fruit quality. *CABI Reviews*, 10 p.
- McClure, B.A., Gray, J.E., Anderson, M.A., and Clarke, A.E. 1990. Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA. *Nature* 250: 937–941.
- Mota, M., Tavares, L. and Oliveira, C.M. 2007. Identification of S-alleles in pear (*Pyrus communis* L.) cv. 'Rocha' and other European cultivars. *Scientia Horticulturae*, 113(1): 13-19.
- Murfett, J., Cornish, E.C., Ebert, P.R., Bonig, I., McClure, B.A. and Clarke, A.E. 1992. Expression of a Self-Incompatibility Glycoprotein (S2-Ribonuclease) from *Nicotiana glauca* in Transgenic *Nicotiana tabacum*. *The Plant Cell*, 4(9): 1063-1074.
- Murray, M.G. and Thompson, W. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8(19): 4321-4326.
- Norioka, S., Oneyama, C., Takuma, S., Shinkawa, T., Ishimizu, T., Nakanishi, T. and Sakiyama, F. 2007. Purification and characterization of a non-S-RNase and S-RNases from styles of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(12): 878-886.
- Ortega, E., Sutherland, B.G., Dicenta, F., Boskovic, R. and Tobutt, K.R. 2005. Determination of incompatibility genotypes in almond using first and second intron consensus primers: detection of new S alleles and correction of reported S genotypes. *Plant Breeding*, 124(2): 188-196.
- Qiao H, Wang F, Zhao L, Zhou J, Lai Z, Zhang Y, Robbins TP, Xue Y. 2004. The F-box protein AhSLF-S2 controls the pollen function of S-RNase-based self-incompatibility. *Plant Cell*, 16(9): 2307.
- 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. *Australian Journal of Crop Science*, 4(8): 648-659.
- Riger, M. 2006. *Introduction to fruit crop*. Haworth Press, USA. 449 p.

- Ruck, H.C. 1975. Deciduous fruit tree cultivars for tropical and sub-tropical regions. Horticultural Reviews, 3: 84-172.
- Sapir, G., Stern, R.A., Shafir, S. and Goldway, M. 2008. S-RNase based S-genotyping of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) and its implication on the assortment of cultivar-couples in the orchard. Scientia Horticulturae, 118(1): 8-13.
- Saure, M.C. 2011. Dormancy release in deciduous fruit trees. Horticultural Review, 7,7: 239-287.
- Sestras, R., Mihai, B., Mitre, V., Sestras, A. and Smaranda, R.M. 2007. Comparative study on the response of several plum cultivars in central Transylvania conditions, Romania. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 35(2): 69.
- Sutherland, B.G., Robbins, T.P., Tobutt, K.R. and Weber, W.E., 2004. Primers amplifying a range of *Prunus* S-alleles. Plant Breeding, 123(6): 582-584.
- Sutherland, B.G., Tobutt, K.R. and Robbins, T.P., 2003, September. Molecular genetics of self-incompatibility in plums. In XI Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics, 663: 557-562.
- Szabo, Z. 2003. Plum (*Prunus domestica* L.). In: Kozma P, Nyeki J, Soltesz M, Szabo Z (Eds): Floral Biology, Pollination and Fertilization in Temperate Zone Fruit Species and Grape. Akademiai Kiado, Budapest. pp. 515-522.
- Takayama, S. and Isogai, A. 2005. Self-incompatibility in plants. Annual Review of Plant Biology, 56(1): 467-489.
- Tomimoto, Y., Nakazaki, T., Ikehashi, H., Ueno, H. and Hayashi, R. 1996. Analysis of self-incompatibility-related ribonucleases (S-RNases) in two species of pears, *Pyrus communis* and *Pyrus ussuriensis*. Scientia Horticulturae, 66(3-4): 159-167.
- Usenik, V., Štampar, F. and Veberič, R. 2009. Anthocyanins and fruit colour in plums (*Prunus domestica* L.) during ripening. Food chemistry, 114(2): 529-534.
- Ushijima, K., Sassa, H., Tao, R., Yamane, H., Dandekar, A.M., Gradziel, T.M. and Hirano, H. 1998. Cloning and characterization of cDNAs encoding S-RNases from almond (*Prunus dulcis*): primary structural features and sequence diversity of the S-RNases in Rosaceae. Molecular and General Genetics, 260: 261-268.
- Ushijima, K., Yamane, H., Watari, A., Kakehi, E., Ikeda, K., Hauck, N.R., Iezzoni, A.F. and Tao, R. 2004. The S haplotype-specific F-box protein gene, SFB, is defective in self-compatible haplotypes of *Prunus avium* and *P. mume*. The Plant Journal, 39(4): 573-586.
- Verma, L.R. and Jindal, K.K. 1997. Fruit Crop Pollination. Kalyani Publication, Ludhiana, India, 405p.
- Wang, Y., Wang, X., McCubbin, A.G. and Kao, T.H. 2003. Genetic mapping and molecular characterization of the self-incompatibility (S-) locus in *Petunia inflata*. Plant Molecular Biology, 53: 565-580.
- Yamane, H., Tao, R. and Sugiura, A. 1999. Identification and cDNA cloning for S-RNases in self-incompatible Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. Sordum). Plant Biotechnology, 16(5): 389-396.
- Yamane, H., Ikeda, K., Ushijima, K., Sassa, H., and Tao, R. 2003. A pollen-expressed gene for a novel protein with an F-box motif that is very tightly linked to a gene for S-RNase in two species of cherry, *Prunus cerasus* and *P. avium*. Plant Cell Physiology 44: 764-769.
- Yilmaz, K.U., et al. (2009) Preliminary Characterisation of Cornelian Cherry (*Cornusmas* L.) Genotypes for Their Physico-Chemical Properties. Food Chemistry, 114: 408-412.