زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس
دوره 5، شماره 2، پاییز و زمستان 1393

بررسی، شناسایی و توارث پذیری آلل‌های خودناسازگاری و خودسازگاری و صفات رویشی در دورگ‌های بادام با استفاده از نشانگرهای مولکولی و مورفولوژیک

علی ایمانی[1*]، حسین گودرزی[2]، سیدمهدی میری[3]، مهرشاد زین‌العابدینی[4]

1- دانشیار بخش تحقیقات باغبانی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
2- کارشناس ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی کرج
3- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی کرج
4- استادیار گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی کرج

*** کرج، صندوق پستی 4119-31585**
Imani_a45@yahoo.com
(دریافت مقاله: 92/3/21 پذیرش مقاله: 93/11/25)

چکیده- یکی از مشکلات تولید بادام خودناسازگاری است که موجب کاهش شدید تشکیل میوه و نهایتاً ایجاد مشکل در مدیریت باغ می‌شود. بنابرین اصلاح بادام به منظور ایجاد ارقام خودسازگار اهمیت بالایی دارد. در این آزمایش شناسایی وغربال‌گری 100 دورگ بادام حاصل از تلاقی رقم خودسازگار تونو (والد پدری) و رقم خودناسازگار"A-200" (والد مادری) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و مولکولی بررسی شد. نتایج بررسی‌های مولکولی دورگ‌های مورد ارزیابی در این پژوهش نشان داد که اکثر دورگ‌ها تشکیل نوار داده که این نوارها با توجه به نوع آغازگر اختصاصی مورد استفاده شده، نشان دهنده خود گشن بودن 64% این دورگ‌ها است. به عبارتی ارزیابی مولکولی دورگ‌ها به همراه والدین نشان داد که فراوانی آلل‌های S_f، S_1 و S_9 دورگ‌های مورد مطالعه به ترتیب 64%، 72% و54% بود. نتایج ارزیابی اولیه صفات مورفولوژیک در دورگ‌ها به همراه والدین نشان داد که بیشتر صفات اندازه‌گیری شده در دورگ‌ها حد فاصل بین والدین قرار داشت. بنابراین در تحقیق حاضر دورگ‌های خود سازگار شناسایی شده‌اند که می‌توانند در آینده در برنامه‌های اصلاحی استفاده قرار شوند تا گامی دیگر در جهت شناسایی و معرفی ارقام خود سازگار برای ایجاد کشت‌های تک رقمی و استفاده در برنامه‌های اصلاحی بعدی مفید باشد.

کلیدواژگان: بادام، خود سازگار، دورگ، PCR، مورفولوژی.

1- مقدمه

بادام با نام علمی *Prunus amygdalus* Batch syn. *Prunus dulicis* Mill/D.A.Webb، یکی از مهمترین میوه‌های خشک مناطق معتدله در دنیا به شمار می‌رود که

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

به دلیل سهولت در برداشت، نگه‌داری و حمل نقل، سازگار بودن با خاک‌های آهکی و مناطق نیمه خشک از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار می باشد. یکی از مشکلات تولید بادام خودناسازگاری است که موجب کاهش شدید تشکیل میوه و در نهایت ایجاد مشکل در مدیریت باغ می‌شود. بنابراین اصلاح بادام به منظور ایجاد ارقام خود سازگار اهمیت بالایی دارد. به عبارت دیگر گرده افشانی و باروری گل‌های بیشتر ارقام بادام به دلیل سیستم ناسازگاری گامتوفتیک (SI) نیازمند گرده ارقام سازگار است که در سطح کلاله پذیرا قرار گیرد. گرده افشانی ناقص یکی از مهمترین دلایل کاهش عملکرد و عدم دستیابی به پتانسیل تولید در بادام است [22]. از آنجا که تعیین ارقام خودسازگار بادام و کشت آنها در زمان احداث باغ، کارایی کشت بادام و عملکرد را به طور چشمگیری افزایش می‌دهد [۲۶،۹]. بنابراین اهمیت دارد که ارقام خود گشن و روش اصلاح سریع آنها در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گیرد [۲۶،۹]. به همین دلیل، تحقیقات وسیعی در جهان در جهت شناسایی و دستیابی به ارقام مناسب خود گشن بادام در حال اجرا می‌باشد [۴،۱۹]. اولین گزارش در مورد خودسازگاری در بادام در سال 1945 ارائه گردید ولی در آن موقع به این مسأله توجهی نشد، زیرا اهداف اصلی اصلاح‌گران دستیابی به ارقام دیر گل، پر محصول و مقاوم به آفات و امراض بود. در سال 1960 چهار رقم خود سازگار از بین 23 رقم مورد مطالعه در آلمان معرفی شدند که این ارقام شباهت زیادی به والدین اولیه خود یعنی دورگ هلو و بادام داشتند. در سال 1969 رقم خودناسازگار "اکسینو گراد" از رومانی و در سال 1973 رقم "مازاتو" از تونس به عنوان رقم‌های خودسازگار معرفی شدند. در سال 1975 برای اولین بار بر اساس رشد لوله گرده، دو رقم خودسازگار "تونو" از ایتالیا و رقم "A-S-1" از اسپانیا گزارش شدند و پس از آن در سال 1976 چند رقم خود-سازگار"اکچیورسو"، "فلیپوسئو"، "تونو" و "جینکو" را ازمنطقه پوگلیا در جنوب ایتالیا گزارش شدند و امروزه خودسازگاری یکی از اهداف اصلی در برنامه‌های اصلاحی بادام بوده و ارقام زیادی نیز در کشورهای اسپانیا، ایتالیا و سایر کشورهای حوزه مدیترانه از طریق تلاقی‌های کنترل شده به دست آمده‌اند [۵،۳۷]. خودناسازگاری در جنس پرونوس، گامتوفیتیک بوده و به‌وسیله یک مکان ژنی با چندین آلل کنترل می‌شود و روی گروه لینکاژی G6 در نقشه ژنتیکی بادام قرار دارد [6]. خودناسازگاری در بادام توسط گلیکو پروتئین‌های خامه با فعالیت ریبونوکلئازی کنترل می‌شود ولی در ارقام خودسازگار بادام فعالیت ریبونوکلئازی مشاهده نشده است [۱۴،۱۸]. پیدایش ارقام خودسازگار بادام نظیر "تونو"، "سوپرنوا" و "جینکو" از بین جمعیت‌های بادام از یک طرف و وراثت پذیری بالا و نیز غالبیت آلل خودسازگاری S_f بر سایر آلل‌های خودناسازگاری نقطه قوتی برای انجام تلاقی‌های کنترل شده بین ارقام خود سازگار با سایر ارقام مرغوب و تجاری خود سازگار شده و به عنوان یک روش اصلی در جهت به دست آوردن و توسعه ارقام خودسازگار می باشد و امروزه دست یابی به ارقام خودسازگار و دیر گل یکی از اهداف اصلی در برنامه‌های اصلاح بادام است [۲۳،۳۷،۳۸،4] .یکی از روش‌های دستیابی به ارقام خودسازگار از طریق تلاقی‌های کنترل شده بین ارقام خودسازگار با ارقام خودناسازگار است. اما درصد انتقال صفت خودناسازگاری (S_f) در بادام بستگی به نحوه انتخاب والدین در برنامه‌های تلاقی کنترل شده اهمیت زیادی دارد [37]. برای مثال نتاج حاصل از تلاقی رقم "فرانیس" (S_3S_1) به عنوان والد پدری با رقم "تونو" (S_1S_f) به عنوان والد مادری به نسبت 1:1 و به صورت 50 درصد دارای ژنوتیپ S_1S_3 (خودناسازگار) خواهد بود. در حالی

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

که در تلاقی معکوس آن، ترکیب تلاقی از رقم "فرانیس" (S_1S_3) به عنوان والد مادری و رقم تونو (S_1S_f) به عنوان والد پدری استفاده شود، همه نتاج خودسازگار خواهد بود، زیرا دانه گرده با آلل S_1 از رقم "تونو" قادر به رشد و باروری بوده و بنابرین 50 درصد نتاج دارای ژنوتیپ S_3S_f و 50 درصد بقیه دارای ژنوتیپ (S_1S_f) خواهد بود [۲۸،۳۰ ، 34 و 37]. بنابراین در برنامه‌های اصلاحی که هدف آن دستیابی به ارقام خودسازگار باشد، انتخاب ارقام خود سازگار (S_xS_f) به عنوان والد پدری از یک طرف و انتخاب والد مادری از یک رقم خود نا سازگار (S_xS_y) با صفات مطلوب که دارای یک آلل خودناسازگاری مشترک با والد پدری می‌باشد، منجر به تولید نتاجی باژنوتیپ S_xS_f و S_YS_f خواهد شد که همگی خودسازگارند. مطالعات حاصل از تلاقی کنترل شده و تعیین درصد تشکیل میوه [1] و مطالعات رشد لوله گرده توسط میکروسکوپ فلورسنس [30]، مطالعات ایزوآنزیم ریبونو کلئازهای خامه [9] و مطالعات مولکولی از طریق PCR [39] نشان داد که صفت خودناسازگاری یک صفت تک ژنی بوده و به صورت چند آللی در مکان S کنترل می‌شود و آلل خودسازگاری (S_f) بر سایر آلل‌های (S_1، S_2، S_n) غالبیت دارد.

شناسایی ژنوتیپ‌های خودناسازگار به وسیله PCR بر اساس تکثیر DNA هدف با آغازگرهای عمومی و اختصاصی که بر اساس توالی DNA کدکننده آلل‌های S طراحی شده‌اند، با استفاده از ژل آگارز در الکترو فورز افقی و سپس رنگ‌آمیزی در اتیدیوم بروماید صورت می‌گیرد. آغازگرهای عمومی طراحی شده بر اساس نواحی حفاظت شده توالی آلل‌های S در بادام [38] و یا توالی آلل‌های S برای تعیین آلل‌های خودناسازگاری (Sf) در بادام استفاده شده است [34،27]. آغازگرهای اختصاصی بر اساس توالی آلل‌های S [۱۰،۱۱ و 29] برای تعیین آلل‌های خودناسازگاری استفاده شده است [12]. شناسایی آلل خودناسازگاری S_f در نتاج حاصل از تلاقی‌های کنترل شده توسط آغازگرهای اختصاصی طراحی شده بر اساس توالی آلل خودسازگاری (S_f) توسط آغازگرهای CEBASf [34]، S_fF/S_fR [12] امکان‌پذیر است. شناسایی آلل Sf با استفاده از جفت آغازگر S_fR/S_fR توسط آلونسو و سوسیاس آی کمپانی (2006) در نتاج حاصل از تلاقی رقم خودسازگار " تونو" (S_1S_f) و رقم خوداسازگار "فرانیس" (S_1S_3) گزارش شده است. از آنجا که آلل‌های S_3 و S_f نوارهای هم اندازه دارند، لذا برای تشخیص آلل S_f در جمعیت‌های حاصل از تلاقی‌های کنترل شده بین ارقام خودسازگار با رقم "فرانیس" (S_1S_3) و فرالیس (S_1S_f) از آغازگر اختصاصی CEBASf [34] و جفت آغازگر SfF/SfR [5] استفاده می‌شود. همچنین تشخیص آلل S_3 با استفاده از آغازگرهای اختصاصی S_3F/S_3R_2،S_3F/S_3R_1 گزارش شده است [5]. آغازگرهای SfR و SfF به‌وسیله محققانی مانند چانون تاپیپت و همکاران (2003) و تامورا و همکاران (2000) به منظور تعیین آلل خود سازگاری در بادام به کار برده شده اند. این آغاز گرها در صورت وجود آلل s_f نواری به طول 450bp تولید می‌کنند. وجود نوار دلیل برخودسازگاری و عدم وجود نوار دلیل برخودناسازگاری بیان شده است. لوپز و همکاران (2005)، با استفاده از جفت آغازگر SfF/SfR و تکنیک PCR خودسازگاری را در نتاج حاصل از تلاقی‌های (S_1S_F) "فالسا بارس"[1] × (S_IS_5) "گلوریتا"[2] و (S_3S_F) لوران[3] × (S_5S_9) پریمورسکی[4] بررسی کردند. در تلاقی اول به دلیل وجود آلل مشترک S_1 در هر دو والد تمام نتایج خودسازگار بوده

1. Falsa Barese
2. Glorieta
3. Louranne
4. Primorskiy

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

ولی در تلاقی دوم نتاج حاصل به نسبت 1:1 خودسازگار بودند. چانون تاپیپت و همکاران (2003)، توانستند با استفاده از آغازگرهای طراحی شده از نواحی حفاظت شده، آلل‌های ناسازگاری $S_1,S_2,S_3,S_4,S_5,S_7,S_8,S_9,S_{10},S_{11},S_{23}$ و آلل خودسازگاری S_f را شناسایی کنند. این آغازگرها ، به عنوان آغازگرهای اختصاصی برای این 13 آلل طراحی شده و استفاده می‌شوند. تامورا و همکاران (2000)، جفت آغازگرهای الیگونوکلئوتیدی AS1II و AmyC5R را از نواحی حفاظت شده DNA در مکان ناسازگاری برای تعیین آلل‌های S_a,S_b,S_d در ارقام بادام طراحی کردند. این جفت آغازگر آلل‌های مختلفی را در واکنش PCR ایجاد نمودند.آلسون همکاران (2005)، از جفت آغازگرهای$S3F\text{-}S_3R$ استفاده کرده و به عنوان جفت آغازگر اختصاصی برای تشخیص آلل ناسازگاری S_3، با موفقیت مورد استفاده قرار گرفت. چانچز پرز و همکاران (2004)، از جفت آغازگر AS1II و Amyc5R و انجام PCR ساده و مرکب برای تعیین آلل‌های ناسازگاری استفاده کردند، اما به علت طول مشابه حاصل از دو آلل S_3 و Sf در ارقام مختلف، آن‌ها آغازگر جدیدی با عنوان $CEBAS_f$ با استفاده از داده‌های بانک ژن مربوط به آلل‌های ناسازگاری که در هشت رقم حضور داشتند طراحی نموده و به این ترتیب توانستند 10 آلل خودناسازگاری را ($S_{13}, S_{12}, S_{11}, S_{10}, S_9, S_7, S_5, S_3, S_2, S_1$) را به همراه آلل خودسازگاری S_f در ارقام بادام مطالعه خود ، مشخص نمایند.

با استفاده از PCR مرکب و آغازگرهای AS1II، CEBASF و Amyc5R در یک واکنش، تمام آلل‌های S موجود قابل تشخیص و شناسایی می باشند. PCR مرکب یک شیوه سریع، آسان، ارزان و قابل اجرا بر روی نهال‌های جوان برای شناسایی ژنوتیپ‌های ناسازگار و خودسازگار در درختان میوه بادام است.

شرفی و همکاران (2012)، آلل‌های S را در 30 ژنوتیپ بادام دیرگل و مقاوم به آفات با روش PCR و با استفاده از آغازگرهای As1II و Amyc5R و Pru-C2/pru-C5R شناسایی کردند. تمام ژنوتیپ‌ها به غیر از 3 ژنوتیپ خودناسازگار بوده و تعداد زیاد آلل‌های ناسازگاری تعیین شده و بدست آمده در این جمعیت نشان دهنده فراوانی و تنوع آلل S در گیاه بادام است.

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 بزرگی نیست. به طوری که حتی پس از جوانه زنی و خروج اولین برگ‌ها می‌توان DNA آن‌ها را استخراج کرده، با روش PCR(واکنش زنجیره‌ای پلیمراز) و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی وجود یا عدم وجود آلل S_f را شناسایی کرد [25].

این روش با توجه به دقت زیاد و سهولت کاربرد، نسبت به روش آنالیز ریبو نوکلئازهای خامه بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش PCR در مقایسه با روش آنالیز ریبونولکئازهای خامه(NEPHGH)، یک روش آسان، کم هزینه، دقیق و قابل اطمینان بوده و از آنجایی که گل‌دهی لازم نیست، در سن نونهالی نیز قابل اجرا بوده و در مقایسه با روش آنالیز ریبونولکئازهای خامه دست‌یابی به ژنوتیپ‌های خود سازگار، زودتر امکان‌پذیر است [20]. از طرفی کارآمد بودن تلاقی‌های کنترل شده در برنامه‌های اصلاحی به نحوه انتخاب والدین و آگاهی از نحوه توارث صفات مورد هدف اصلاح گر دارد و توجه به کارایی برنامه اصلاحی و نتایج مطلوب در اصلاح درختان میوه از جمله بادام به علت هزینه بالا و وقت گیر بودن فرایند اصلاح دارای اهمیت زیادی است. صفات مهمی چون مشخصات درخت، دیرگل دهی، تراکم گل‌دهی، عملکرد، زمان رسیدن، خصوصیات خشک میوه (شامل وزن، شکل، ابعاد (طول، عرض و قطر)، سختی پوست چوبی)،

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

خصوصیات مغز (شامل درصد مغز یا نسبت وزن خشک میوه به مغز، ضخامت مغز، شکل، اندازه، وزن، چروکیدگی، رنگ و طعم مغز) و خودسازگاری همواره از اهمیت بالایی در برنامه‌های اصلاحی بادام برخوردار بوده و همبستگی و نحوه توارث این صفات توسط اصلاح گران بادام مورد توجه قرار گرفته‌اند [۴،۲۳،۱۳ و 38]. به طوری که درختان از لحاظ اندازه، شکل، قدرت رشد[1]، الگوی شاخه‌دهی[2]، رشد و عادت باردهی، متفاوت بوده و برای ارقام خاص الگوهای اختصاصی را می‌توان تشخیص داد. این صفات، میزان باروری[3]، نیاز به تربیت وهرس و سازگاری به عملیات برداشت را تحت تأثیر قرارمی دهند [21 و 23].ترکیبی از تمام این صفات همراه با صفات مهم مربوط به شاخ و برگ درخت، فنوتیپ اختصاصی درخت را بوجود می‌آورند. چنین فنوتیپ‌هایی قابل توراث بوده و هم انواع والدینی و هم حد واسط، اغلب می‌توانند در نتاج بوجود آیند. ارقام"نون پاریل"، "تکزاس" و"نپلوس اولترا" را می‌توان به‌راحتی با این روش مشخص کرد. رقم"تونو" ساختار درختی متمایزی را از خود نشان می‌دهد، به طوری که این رفتار در نتاج آن نامطلوب است [21 و37]. ارقام "مارکونا"، "کریستو مورتو" و "پریمورسکی" به‌عنوان ارقامی که نتایج مطلوب بوجود می‌آورند، توصیف شده‌اند [23 و 37]. وجود همبستگی بین خصوصیات رشدی درختان جوان و ساختار بالغ آنها امکان تصمیم‌گیری‌های اولیه را، به ویژه در انتخاب والدین برای تلاقی‌های بعدی در اختیار به‌نژادگران قرار می‌دهد. چهار صفت مفید در این رابطه در درختان جوان شناسایی شده است: الف) تعداد انشعابات یک ساله بر روی یک دانهال دوساله؛ ب) طول 3 عدد از پر رشدترین شاخه‌ها؛ ج) زاویه اتصال انشعابات جانبی اصلی د) تعداد انشعابات فرعی ثانویه بر روی شاخه‌های یک‌ساله. فنوتیپ‌های نتاج 3 مورد اول، حد واسط بین والدینشان بودند. صفت چهارم به‌طور پیوسته[4] ازطریق ارقام "آرد چویس" و"آی" به نتاج‌شان انتقال می‌یابد [23]. طبق گزارشی اندازه درخت یک واژه نسبی است که نه تنها بستگی به ژنوتیپ بادام دارد بلکه به سن باغ، منطقه[5] (اقلیم، خاک) و مدیریت (آبیاری، کوددهی، هرس) نیز وابسته است. اندازه درخت با پیش‌رسی[6] و باردهی[7] مرتبط است. رشد درختان رقم "مرسد" با افزایش سن تا اندازه‌ای به واسطه تولید پیش‌رس کاهش پیدا می‌کند، درحالی که درختان رقم "نون پاریل" تمایل به حفظ قدرت رشد خود داشته و در نتیجه درختانی بزرگتر، بارده‌تر و قابل کنترل‌تر می‌باشند [23]. درختان با اندازه و تراکم متوسط می‌توانند برای تمامی عملیات کارآمدتر باشند، اما ترکیب بهینه بایستی بصورت تجربی در نظر گرفته شود [4،۱۳،۲۳،۳۷ و 38].

اندازه درخت می‌تواند در برآورد فاصله‌بندی و تراکم باغ مفید باشد. قطر، پیرامون و سطح مقطع عرضی تنه درخت با حجم کل سایه انداز و عملکرد همبستگی دارد. عملکرد به ازای هر درخت که به سطح مقطع عرضی تنه تقسیم می‌شود، به عنوان بازده عملکرد مطرح است [23]. بر اساس مطالعات بیشتر ترکیبات نتاج نسبت به هرکدام از والدین بزرگتر و پررشدتر می باشند اما برخی ارقام بادام (مانند "تگزاس") هنگامی که با هلو تلاقی داده می‌شوند تولید نتاجی با اندازه کوچکتر می‌کنند [4،۱۳،۲۳،۳۷ و 38]. گزارش شده است که درختان کوچک، از جمعیت‌های خالص[8] (از لحاظ ژنتیکی) حاصل از والدین خود بارور، مانند آنچه که در مورد *P.webbi* وجود دارد، نتاج

1. Vigor
2. Branching
3. Productivity
4. Consistently
5. Site
6. precocrousness
7. productivity
8. Inbred

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

خودگشنی"فلیپوسئو"، "اکی روسو"، "ژنکو" و "تونو" و "نون پاریل" × "جفریز" حاصل می‌شوند. "مارکونا" تمایل به تولید نتاجی با اندازه کوچکتر درخت دارد [23]. به نظر می رسد که شکل به صورت کمی توارث پیداکرده و اغلب حد واسط بین والدین است. رشد و عادت باردهی به ترتیب به وضعیت رشد رویشی و موقعیت جوانه گل برمی‌گردد. ژنوتیپ‌های مختلف دارای عادات خاصی5 ارقام و ژنوتیپ های مختلف بادام دارای عادات رشد و باردهی متفاوت [گروه 1- بیشتر جوانه‌های گل بر روی شاخساره‌های یک ساله (مثل رقم "آی")؛ گروه 2- بیشتر گل‌ها بر روی اسپورها (رقم "تونو")؛ و گروه 3- مختلط (رقم "نون پاریل")] می‌باشند که به شدت توارث پذیرند [23]. همچنین ظاهر شاخ و برگ می‌تواند نشان دهنده قدرت رشد ضعیف و یا عدم توانایی تحمل عوامل نامساعد در محیط نظیر هجوم کنه‌ها باشد. یک مشخصه ناپایدار تحت عنوان لکه زرد دربرخی از ارقام مشاهده شده و درنتاج آنها نیز تظاهر می یابد [23].از سویی زمان برگ‌دهی نتاج دارای توزیع نرمال بوده و حد وسط والدین قرار دارد و نتاج حاصل از تلاقی رقم خیلی دیرگل (آر1000) و خیلی زودگل ("دسمایولارگوتا") از نظر برگ دهی، حد فاصل والدین قرار داشت. سانچز-پرز و همکاران (2007). کستر و گرادزیل (1996) توارث بالایی را برای زمان برگ دهی به نتاج گزارش کردند، ولی دیسنتا و همکاران (2005) توارث پذیری این صفت را در 502 نتاج از 13 تلاقی بررسی کردند و میزان توارث پذیری آن را 69% گزارش کردند. بین زمان برگ‌دهی و گل‌دهی همبستگی وجود دارد و در نتاجی که زمان برگ‌دهی همزمان با زمان گل‌دهی است یا زودتر اتفاق می افتد، بین برگ‌های در حال رشد و جوانه‌های گل در مرحله شکوفایی رقابت به وجود می‌آید که منجر به ریزش بخشی از گل‌ها شده و میزان تشکیل میوه کاهش می‌یابد [35]. صفات مهمی مانند مشخصات درخت، دیرگل‌دهی، تراکم گل‌دهی، عملکرد، زمان رسیدن، خصوصیات خشک میوه (شامل وزن، شکل، ابعاد (طول، عرض و قطر)، سختی پوست چوبی)، خصوصیات مغز (شامل درصد مغز یا نسبت وزن خشک میوه به مغز، ضخامت مغز، شکل، اندازه، وزن، چروکیدگی، رنگ و طعم مغز) و خودسازگاری همواره از اهمیت بالایی در برنامه‌های اصلاحی بادام برخوردار بوده و همبستگی و نحوه توارث این صفات به‌وسیله اصلاح‌گران بادام مورد توجه قرار گرفته‌اند [۵،۱۳،۱۵ و21]. در این راستا غربال‌گری دورگ‌های خود گشن از میان نتاج ترکیب تلاقی ژنوتیپ امید بخش انتخابی "آ200" و "تونو" با استفاده از نشانگرهای ملکولی انجام شده تا دورگ خود گشن از میان توده دورگ‌های حاصل از ترکیب فوق به طوری سریع و در کوتاه‌ترین زمان بررسی و شناسایی شوند تا بتوان از این دورگ‌های خود گشن شناسایی شده در برنامه‌های اصلاحی بادام بهره‌برداری کرد. بنابراین شناخت سریع و عرضه ارقام بادام اصلاح شده جدید سازگار می‌تواند در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی حائز اهمیت باشد.

2- مواد و روش‌ها

در این مطالعه 100 دورگ حاصل از دورگ‌گیری دوساله ارقام "آ200" با رقم "تونو" با استفاده از بررسی صفات مورفولوژیک از قبیل میزان رشد و سایر مشخصات دانهال (دورگ)ها به همراه والدین آنها از جمله ارتفاع، قطر تاج، شعاع گسترش، تعداد شاخه‌های فرعی، طول بلندترین شاخه، درصد ریزش برگ (خزان)، طول پهنک برگ، عرض پهنک برگ و طول دم برگ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با 3 تکرار و همچنین با بهره‌گیری نشانگرهای مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.DNA ژنومی به روش دویله ودویله (1987)

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

استخراج شد که از طریق روش‌های اسپکتوفتومتری و ژل آگارز (0/8 درصد) مورد ارزیابی کمّی و کیفی قرار گرفت. برای تکثیر عمومی آلل‌ها به روش PCR ساده از آغازگرهای رو به جلو AS1II و رو به عقب (معکوس) AmyC5R و برای تکثیر اختصاصی آلل Sf از آغازگر رو به جلو CEBASf و آغازگر معکوس AmyC5R استفاده شد (جدول 1).

جدول 1 توالی آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش و توالی آنها

نام آغازگر	توالی آغازگر	نوع آغازگر
AS1II	TAT TTT CAA TTT GTG CAA CAA TGG	رو به جلو
AmyC5R	CAAAATACCACTTCATGTAACAAC	معکوس
CEBAS	AGA TCT ATC ATT ATC TTA AGT CTG	رو به جلو
AmyC5R	CAAAATACCACTTCATGTAACAAC	معکوس

زنجیره‌های پلیمراز در حجم 10 میکرو لیتر، که از 10 میکرولیتر آن 3 میکرولیتر مربوط به DNA الگو، 9/. ماکرولیتر بافر PCR(NH4)2SO4) با Ph=8.8، 6/. ماکرولیتر (کلرید منیزیم mgcl2)،9/. میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدها(dntps)،1 میکرولیتر آغازگر رو به جلوp1،1 میکرولیتر آغازگر معکوس p2 و در نهایت 2/. میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز(Taq)اضافه شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشت سازی اولیه یا همان دناتوره شدن به مدت 3 دقیقه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد، 30 چرخه واسرشت سازی در 94 درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها به مدت یک دقیقه در دمای 53 درجه سانتی‌گراد، بسط در دمای 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 دقیقه و بسط نهایی (ساخت نهایی زنجیره) در دمای 72 درجه سانتی گراد به مدت 10 دقیقه بود. محصولات تکثیر شده با استفاده از ژل آگارز 1 درصد و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید تفکیک شدند (زین‌العابدینی وهمکاران، 1391). امتیاز دهی و تعیین اندازه آلل‌ها بوسیله نرم‌افزار آنالیز ژل Gene tools از شرکت Syngene انجام شد.

3- نتایج و بحث

3-1- نتایج اندازه‌گیری خصوصیات رشدی دانهال (دورگ)ها

نتایج تجزیه واریانس صفات مختلف رویشی در "تونو" و "آ200" و دورگ‌های آن در جدول 2 و همچنین مقایسه میانگین‌ها در جدول 3 ارائه شده است.

باتوجه به نتایج بدست آمده از جدول مقایسه میانگین صفات بوسیله آزمون دانکن نتایج زیر قابل ذکر است:

ارتفاع: همان‌طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود میانگین ارتفاع در رقم "تونو" (107/66 سانتی‌متر) نسبت به میانگین ارتفاع در رقم "آ200" (115سانتی‌متر) و دورگ‌های حاصل از "آ200" و "تونو" (94/33 سانتی‌متر) دارای برتری است و این درحالی است که میانگین ارتفاع دورگ‌های حاصل از "آ200" و "تونو" نیز نسبت به رقم "آ200" برتری دارد. نتایج تجزیه واریانس صفات مختلف رویشی در "تونو"، "آ200" و دورگ‌های آن در جدول 2 نشان می‌دهد که بین نتاج و والدین آنها اختلاف معنی‌داری در سطح 1 درصد وجود دارد.

به عبارت دیگر از نظر میانگین ارتفاع، دورگ‌ها حدواسط بین والدین قرار می‌گیرند. نتایج این آزمایش با گزارش‌های سایر محققان مطابقت دارد [23]. به طوری که طبق گزارش کستر وآسی (1975) و سوسیاز آی کمپانی و همکاران (1990) بیشتر ارقام *Prunus dulicis*، بسته به سن و منطقه در دامنه‌ای از اندازه درخت از متوسط تا بزرگ قرار می‌گیرند.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

جدول 2 نتایج تجزیه واریانس صفات مختلف رویشی در "تونو" و "آ200" و دورگ‌های آن

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات MS								
		ارتفاع	قطر تاج	شعاع گسترش	تعداد شاخه‌های فرعی	طول بلند ترین شاخه	درصد ریزش برگ (خزان)	طول پهنک برگ	عرض پهنک برگ	طول دم برگ
رقم	2	268/71**	0/2866**	107/39**	10/752 ns	290/71**	483/26**	2/2715**	0/215**	0/0949 ns
تکرار	2	15/38 ns	0/0091 ns	8/443 ns	0/068 ns	0/71 ns	1	0/0067 ns	0/00083 ns	0/0016 ns
خطا	4	19/69	0/01333	0/796	1/49	1/47	0/22	0/0178	0/00556	0/01512
ضریب تغییرات		8/86	14/78	8/19	17/52	16/46	13/12	13/38	14/11	10/76

**: در سطح یک درصد معنی‌دار، ns: غیر معنی‌دار.

بررسی‌های دقیقی در رابطه با وراثت پذیری این صفت صورت گرفته است. اما اندازه درخت احتمالاً به‌وسیله ژن‌های کمی و افزاینده کنترل می‌شوند. یک فنوتیپ متمایز از لحاظ اندازه کوچک درخت در نتاج "تگزاس"[1] × "مرسد"، (یک کراسی با یکی از والدین "نون پاریل" × "تگزاس" مشاهده شد. گراسلی و کراسا-رنیاود یافته‌های مشابهی را با تلاقی‌های "فرادوال" و "فراگنس" گزارش دادند (ذکر از منبع [23]). تنوع اندازه در میان گونه‌های بادام با توجه به وجود گونه‌هایی بسیار کوچک (مثل *P.webbi*، *P.renzliana*، *P.argontea*) و درختچه‌ای بیشتر است تا در داخل گونه *P.dulicis*. تنوع اندازه بین جمعیت‌های F1 این گونه‌ها با *P.dulicis* بیشتر بصورت حدواسط بوده و دورگ گیری‌های بین گونه‌ای می‌تواند منشاء کاهش اندازه درخت باشد (ذکر از منبع [13]).

قطر یقه: همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود از لحاظ قطر یقه بین ارقام اختلاف معنی‌داری وجود دارد به طوری که میانگین قطر یقه در رقم "آ200" (2/46 سانتی‌متر) نسبت به میانگین قطر یقه در رقم "تونو" (2/067 سانتی‌متر) و دورگ‌های آن (1/76 سانتی‌متر) برتری داشته، هم چنین رقم میانگین پیرامون یقه "تونو" نسبت به میانگین پیرامون یقه دورگ‌ها بیشتر بوده است. بر اساس گزارش کستر و گرادزل (1990) تنوع اندازه در میان گونه‌های بادام با توجه به وجود گونه‌هایی بسیار کوچک (مثل *P.webbi*، *P.argontea* و *P.renzliana*) و درختچه‌ای بیشتر است تا درداخل گونه *P.dulicis* . تنوع اندازه بین جمعیت‌های F1 این گونه‌ها با *P.dulicis* بیشتر به صورت حدواسط بوده و دورگ گیری‌های بین گونه‌ای می‌تواند منشاء کاهش اندازه درخت باشد [23]. **شعاع گسترش:** با توجه به نتایج به دست آمده در جداول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین از لحاظ شعاع گسترش درخت در بین رقم "آ200"، تونو و دورگ‌های آن نشان می دهد میانگین شعاع گسترش رقم "آ200"به میزان 71 سانتی‌متر نسبت به میانگین شعاع گسترش رقم "تونو" (86/00 سانتی‌متر) میانگین شعاع گسترش دورگ‌ها (70/20) بیشتری دارد. همچنین میانگین تعداد شاخه‌های فرعی رقم "آ200" (11 عدد) نسبت به میانگین تعداد شاخه‌های فرعی رقم "تونو" (14) و میانگین تعداد شاخه‌های فرعی دورگ‌ها (10/64) بیشتری دارد دو رقم دیگر از لحاظ تولید شاخه‌های ثانویه در اولویت است، ولی رقم "تونو"نیز نسبت به دورگ برتری دارد. **طول بلندترین شاخه**: از لحاظ میانگین داشتن بلندترین طول شاخه دورگ‌ها نسبت به میانگین بلندترین طول شاخه در رقم "تونو" و رقم "آ200" در این صفت برتری دارد. بر اساس مطالعات درختان از لحاظ اندازه، شکل، قدرت رشد، الگوی شاخه دهی، رشد و عادت باردهی ،متفاوت

1. Texas

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

بوده و برای ارقام خاص الگوهای اختصاصی را می‌توان تشخیص داد. این صفات، میزان باروری، نیاز به تربیت وهرس و سازگاری به عملیات برداشت را تحت تأثیر قرار می‌دهند. ترکیبی از تمام این صفات همراه با صفات مهم مربوط به شاخ و برگ درخت، فتوتیپ اختصاصی درخت را بوجود می آورند. چنین فنوتیپ‌هایی قابل توراث بوده و هم انواع والدینی و هم حدواسط، اغلب می‌توانند در نتاج بوجود آیند. ارقام"نون پاریل"، "میشن" و"نپلوس اولترا" را می‌توان به‌راحتی با این روش مشخص کرد. رقم"تونو" ساختار درختی متمایزی را از خود نشان می‌دهد بطوری که این رفتار در نتاج آن نامطلوب می‌باشد. ارقام "مارکونا" ،"کریستو مورتو" و "پریمورسکی" به‌عنوان ارقامی که نتایج مطلوب بوجود می‌آورند، توصیف شده‌اند (کستر 1990،کستر و گرادزیل 1996). **خزان (درصد ریزش برگ)**: از لحاظ میانگین درصد ریزش برگ رقم "آ200" بیشترین میزان خزان را داشته و میانگین درصد ریزش برگ دردورگ‌ها نسبت به رقم "تونو" درصد خزان بیشتری دارد، یا به عبارت دیگر میانگین درصد ریزش برگ رقم "تونو" نسبت به میانگین درصد ریزش برگ رقم "آ200" و دورگ‌ها کمتری است. **طول پهنک برگ:** در این صفت رقم رقم "تونو" نسبت به میانگین طول پهنک برگ رقم "آ200" و دورگ‌ها بیشتری داشته و دورگ‌ها نیز نسبت به رقم "آ200" طول پهنک برگ بیشتری دارد. **عرض پهنک برگ:** با توجه به اعداد بدست آمده در جدول 3 از نظر میانگین عرض پهنک برگ دورگ‌ها نسبت به دو رقم دیگر عرض پهنک برگ بینابین داشته و رقم "تونو" نیز نسبت به رقم "آ200"عرض پهنک برگ بیشتری دارد. **طول دم برگ:** از لحاظ طول دمبرگ نیز دورگ‌ها همانند دو رقم دیگر طول دم برگ مشابه داشتند. یافته‌های مشابهی در رابطه با وراثت پذیری ابعاد گل [23] و وراثت پذیری صفات مثل رنگ و ابعاد خطی از برگ گزارش شده است [23]. این اطلاعات ممکن است شباهت‌های صفات برگ را میان دانهال‌های دورگ حاصل از تلاقی توضیح دهد [23و35].

نتایج تجزیه مولکولی آلل خودباروری. Sf برای غربال‌گری دورگ‌های خودسازگار از خودناسازگاری با استفاده از روش PCR با آغازگرهای اختصاصی در نوار bp449 (جفت باز) مشاهده شد (شکل‌های 1،2).

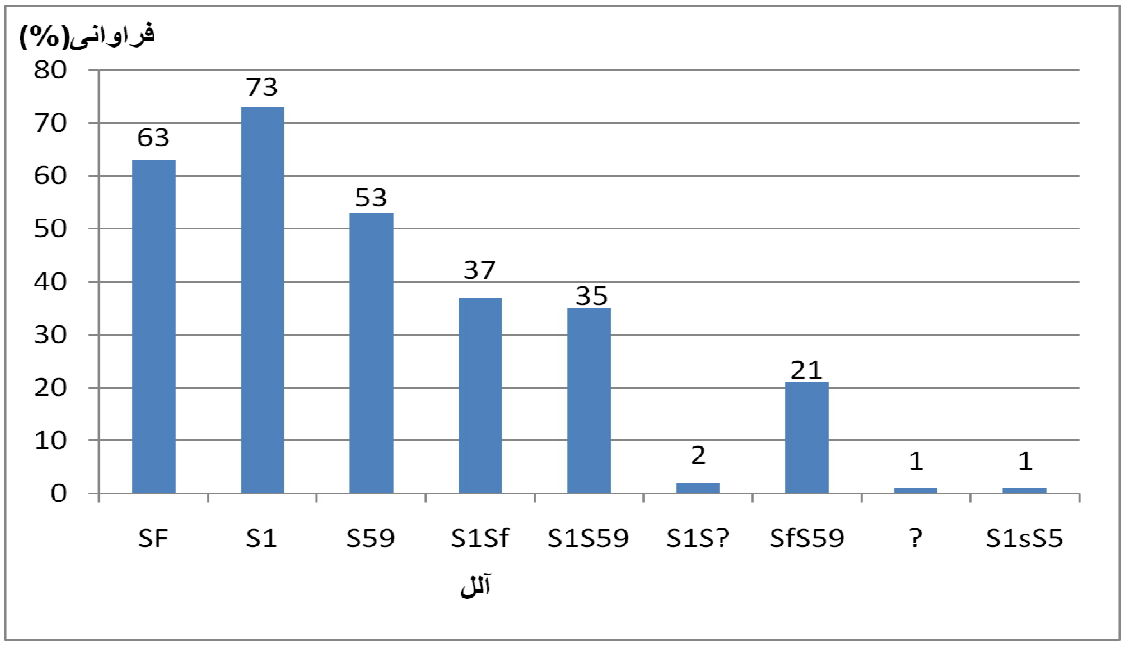
آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش، محدوده‌ای از آلل‌های خودسازگاری و خودناسازگاری را در هیبریدهای امیدبخش بادام تکثیر کردند (جدول‌های 2-4). اندازه آلل‌های تکثیر شده توسط آغازگرهای دژنره اینترون اول (PaConsI-F/EM-PC1consRD)، از 270 جفت باز تا 700 جفت باز متغیر بود. بیشتر اندازه آلل‌ها بین 200 تا 400 جفت باز بود و فقط اندازه نوارهای بزرگتر 590 و 700 جفت باز بود که نشانگر آلل S_1 است که با نتایج گزارش شده اورتگا و همکاران (2009) ، راحمی (2010) و زین العابدینی وهمکاران (2012) همخوانی داشت.

جدول 3 مقایسه میانگین صفات مختلف رویشی در ارقام "تونو" و"آ200" و دورگ‌های آن

رقم	میانگین صفات مختلف رویشی درارقام								
	ارتفاع (سانتی‌متر)	قطر یقه (سانتی‌متر)	شعاع گسترش (سانتی‌متر)	تعداد شاخه‌های فرعی (سانتی‌متر)	طول بلندترین شاخه (سانتی‌متر)	درصد ریزش برگ خزان	طول پهنک برگ (سانتی‌متر)	عرض پهنک برگ (سانتی‌متر)	طول دم برگ (سانتی‌متر)
"تونو"	107/66 ab*	2/067b	86/00a	14/00a	60/33b	20/33c	6/60a	1/96b	1/73a
دورگ	115/00a	1/76b	70/20b	10/64a	74/75a	39/36b	5/54b	1/75a	2/78a
"آ200"	94/33b	2/46a	71/66b	11/03a	51/66c	45/00a	4/86c	1/40c	1/83a

* میانگین‌ها در هر ستون با حروف مشترک اختلاف معنی‌داری ندارند.

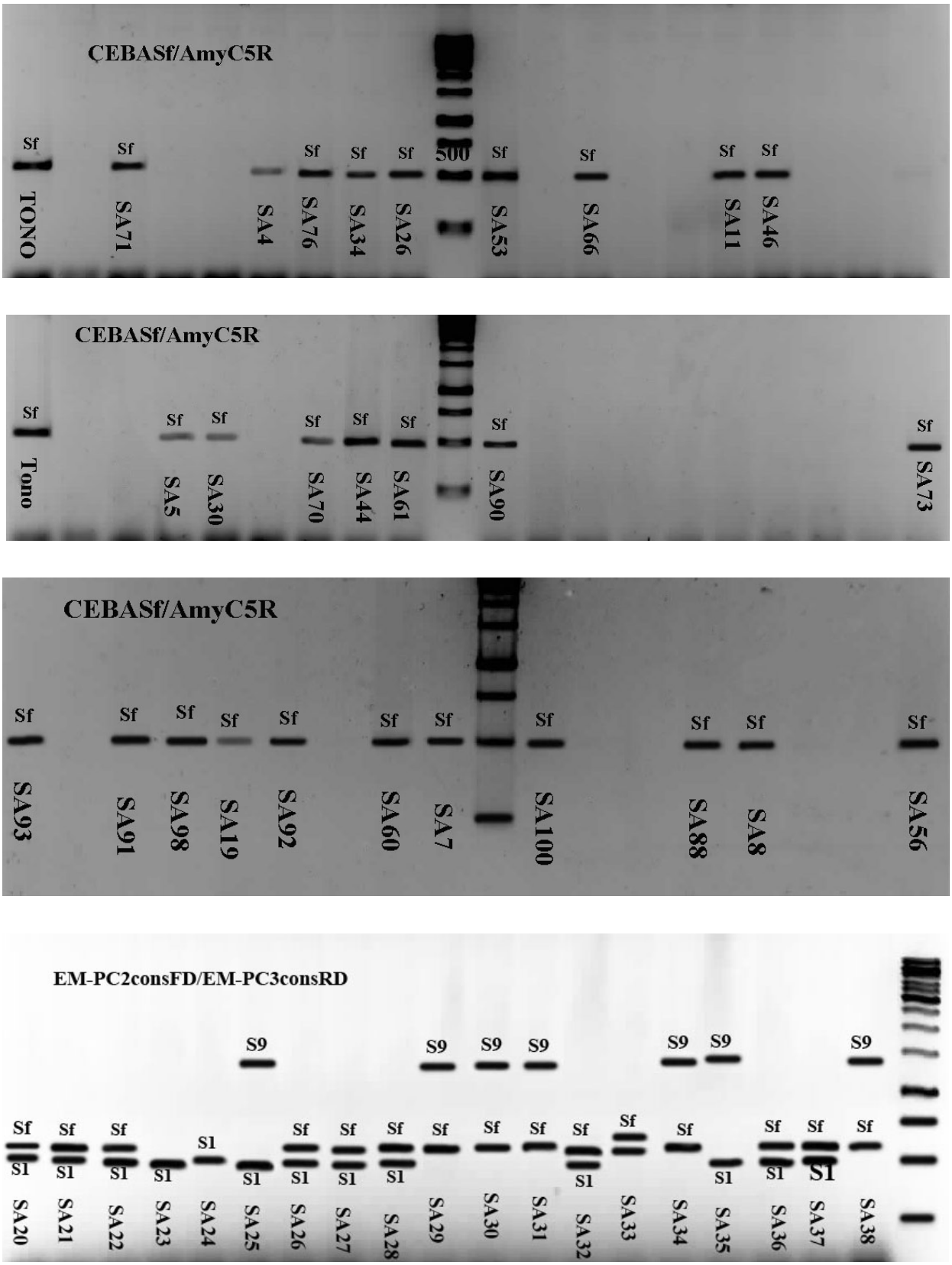
[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]



شکل 1 مقایسه فراوانی آلل‌های *S* و *F* تکثیر شده در جمعیت دورگ بادام

همان طور که در شکل 1 و جدول 4 مشخص است دورگ‌های خودسازگاری از خودناسازگاری کاملاً تفکیک شده است که این نتایج مطابق با گزارش آلونسو وسوسیاز آی کمپانی (2005) بود. نتایج به دست آمده برای جفت آغازگرها CEBASCF+AMYC5R مشابه با نتایج ارائه شده طول نوارهای تکثیر شده در گزارش چانونتاپیپت وهمکاران (2001) بود. همچنین طول نوارهای به دست آمده در گروه آغازگرها مطابق با گزارش‌هایآلونسو وسوسیاز آی کمپانی (2005) و کدخدایی و همکاران (2011) دیده شد که طبق گزارش آنها این حالت احتمالا مربوط به غالبیت آلل‌های خودسازگاری دربین گیاهان خانواده رزاسه می‌باشد. در مجموع در این پژوهش 100 دورگ مورد ارزیابی قرار گرفت که در این بین هدف اصلی شناسایی و غربال‌گری دورگ‌های خود گشن ارقام بادام مورد نظر بودکه به راحتی تفکیک دورگ‌های خود گشن از دورگ‌های دگر گشن قابل مشاهده است (شکل 1 و جدول 4). همچنین فراوانی آلل‌های S_F، S_1، S_{59}، S_1S_f، S_1S_{59}، $S_1S_?$، S_fS_{59} ، ? و S1sS5 به ترتیب ۶۵،۷۳، 53، 37، 35، 2، 21، 1 و 1 درصد بوده است. نتایجی مشابهی توسط مومنپور وهمکاران (2011) ارائه شده است که آنها با استفاده از تکنیک PCR آلل‌های خودناسازگاری را در چند رقم بادام ایرانی شناسایی کرده‌اند. در مطالعه آنها آلل‌های خود سازگاری 48 رقم بادام ایرانی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. با این روش توانستند آلل‌های Sf رقم‌های خودسازگار را شناسایی کنند. همچنین می‌توان به یکی از نتایج جالب توجه تحقیق حاضر به وراثت پذیری آلل خود گشنی حاصل از مطالعه مورد نظر اشاره کرد که کاملاً با قانون اول مندل صدق می‌کند و نسبت دورگ‌های خودگشن نسبت به کل دورگ‌ها 2:1 بود (شکل1 و جدول 4). عبادی و همکاران (1390) وضعیت آلل خودسازگاری در نتاج بادام با استفاده از روش PCR و استفاده از آغازگر SfF-SFR انجام دادند و نشان دادند که از تعداد کل دانهال دورگ تولید شده، 110 دانهال خودسازگار و 85 دانهال خودناسازگار بودند که این نسبت‌های به دست آمده برای آلل‌های S در جمعیت‌های حاصل با نسبت‌های مندلی مطابقت داشت و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد.

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]



شکل2 الگوی نوار آلل‌های S و F در دورگ‌های بادام با استفاده از آغازگرهای AmyC5R و CEBASf

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

جدول 4 فراوانی آلل‌های S_9، S_1، و S_f در جمعیت دورگ‌ها و والدینی آنها

Hybrid	CEBASf/ AmyC5R	second intron	Total Result	Hybrid	Genotype	Sf	S1	S9
AS1	450	750/850	S1/Sf	AS1	S1/Sf	*	*	_
AS2	_	750/1500	S1/S9	AS2	S1/S9	_	*	*
AS3	450	750/850	S1/Sf	AS3	S1/Sf	*	*	_
AS4	450	850/1520	Sf/S9	AS4	Sf/S9	*	_	*
AS5	450	850/1502	Sf/S9	AS5	Sf/S9	*	_	*
AS6	450	1500/?	S9/Sf	AS6	S9/Sf	*	_	*
AS7	450	850/1520	Sf/S9	AS7	Sf/S9	*	_	*
AS8	450	850/1520	Sf/S9	AS8	Sf/S9	*	_	*
AS9	450	750/850	S1/Sf	AS9	S1/Sf	*	*	_
AS10	450	850/750	S1/Sf	AS10	S1/Sf	*	*	_
AS11	450	850/1520	Sf/S9	AS11	Sf/S9	*	_	*
AS12	_	1500/750	S1/S9	AS12	S1/S9	_	*	*
AS13	_	1500/750	S1/S9	AS13	S1/S9	_	*	*
AS14	450	850/1500	S9/Sf	AS14	S9/Sf	*	_	*
AS15	_	750/1520	S1/S9	AS15	S1/S9	_	*	*
AS16	450	850/1520	Sf/S9	AS16	Sf/S9	*	_	*
AS17	_	750/1520	S1/S9	AS17	S1/S9	_	*	*
AS18	450	850/1520	Sf/S9	AS18	Sf/S9	*	_	*
AS19	450	850/1520	Sf/S9	AS19	Sf/S9	*	_	*
AS20	450	750/850	S1/Sf	AS20	S1/Sf	*	*	_
AS21	450	750/850	S1/Sf	AS21	S1/Sf	*	*	_
AS22	450	750/850	S1/Sf	AS22	S1/Sf	*	*	_
AS23	450	750	S1/Sf	AS23	S1/Sf	*	*	_
AS24	450	750	S1/Sf	AS24	S1/Sf	*	*	_
AS25	_	750/1520	S1/S9	AS25	S1/S9	_	*	*
AS26	450	750/850	S1/Sf	AS26	S1/Sf	*	*	_
AS27	450	750/850	S1/Sf	AS27	S1/Sf	*	*	_
AS28	450	750/850	S1/Sf	AS28	S1/Sf	*	*	_
AS29	_	750/1500	S1/S9	AS29	S1/S9	_	*	*
AS30	450	1500	Sf/S9	AS30	Sf/S9	*	_	*
AS31	450	850/1500	Sf/S9	AS31	Sf/S9	*	_	*
AS32	450	850/750	S1/Sf	AS32	S1/Sf	*	*	_
AS33	450	850/750	S1/Sf	AS33	S1/Sf	*	*	_
AS34	450	850/1500	Sf/S9	AS34	Sf/S9	*	_	*
AS35	_	1500/750	S1/S9	AS35	S1/S9	_	*	*
AS36	_	850/750	S1/Sf	AS36	S1/Sf	*	*	_
AS37	_	850/750	S1/Sf	AS37	S1/Sf	*	*	_
AS38	450	850/1500	S9/Sf	AS38	S9/Sf	*	_	*
AS39	_	750/1520	S1/S9	AS39	S1/S9	_	*	*
AS40	_	750/1500	S1/S9	AS40	S1/S9	_	*	*
AS41	_	750/1500	S1/S9	AS41	S1/S9	_	*	*
AS42	450	850/750	S1/Sf	AS42	S1/Sf	*	*	_
AS43	_	750/1500	S1/S9	AS43	S1/S9	_	*	*
AS44	450	750/?	S1/Sf	AS44	S1/Sf	*	*	
AS45	_	1500/750	S1/S9	AS45	S1/S9	_	*	*
AS46	450	1520	Sf/S9	AS46	Sf/S9	*	_	*
AS47	450	850/750	S1/Sf	AS47	S1/Sf	*	*	_
AS48	450	750/300	S1/Sf	AS48	S1/Sf	*	*	_
AS49	450	750/?	S1/Sf	AS49	S1/Sf	*	*	_
AS50	_	750/1500	S1/S9	AS50	S1/S9	_	*	*
AS51	450	1520/?	Sf/S9	AS51	Sf/S9	*	_	*
AS52	_	750/300	S1/S5	AS52	S1/S5	_	*	_
AS53	450	300/750	Sf/ S5,S1	AS53	Sf/ S5,S1	*	*	_
AS54	_	750/1500	S1/S9	AS54	S1/S9	_	*	*
AS55	_	750/1500	S1/S9	AS55	S1/S9	_	*	*
AS56	450	850/750	S1/Sf	AS56	S1/Sf	*	*	_
AS57	450	850/750	S1/Sf	AS57	S1/Sf	*	*	_
AS58	_	750/1500	S1/S9	AS58	S1/S9	_	*	*
AS59	_	750/1500	S1/S9	AS59	S1/S9	_	*	*

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

AS60	450	750/?	S1/Sf	AS60	S1/Sf	*	*	_
AS61	450	750	S1/Sf	AS61	S1/Sf	*	*	_
AS62	450	750/850	S1/Sf	AS62	S1/Sf	*	*	_
AS63	450	750/850	S1/Sf	AS63	S1/Sf	*	*	_
AS64	_	750/1520	S1/S9	AS64	S1/S9	_	*	*
AS65	_	750/1520	S1/S9	AS65	S1/S9	_	*	*
AS66	450	850/1520	Sf/S9	AS66	Sf/S9	*	_	*
AS67	_	750/1520	S1/S9	AS67	S1/S9	_	*	*
AS68	_	750/1520	S1/S9	AS68	S1/S9	_	*	*
AS69	450	850/1520	Sf/S9	AS69	Sf/S9	*	_	*
AS70	450	750/850	Sf/S1	AS70	Sf/S1	*	*	_
AS71	450	850/1520	Sf/S9	AS71	Sf/S9	*	_	*
AS72	_	750/1520	S1/S9	AS72	S1/S9	_	*	*
AS73	450	750/?	Sf/S1	AS73	Sf/S1	*	*	_
AS74	_	750/1520	S1/S9	AS74	S1/S9	_	*	*
AS75	_	750/1520	S1/S9	AS75	S1/S9	_	*	*
AS76	450	850/300	S5/Sf	AS76	S5/Sf	*	_	_
AS77	450	750	Sf/S1	AS77	Sf/S1	*	*	_
AS78	_	750/1500	S1/S9	AS78	S1/S9	_	*	*
AS79	_	750/1520	S1/S9	AS79	S1/S9	_	*	*
AS80	_	750/1520	S1/S9	AS80	S1/S9	_	*	*
AS81	450	850/750	S1/Sf	AS81	S1/Sf	*	*	_
AS82	450	850/750	S1/Sf	AS82	S1/Sf	*	*	_
AS83	450	750/?	Sf/S1	AS83	Sf/S1	*	*	_
AS84	450	750/?	Sf/S1	AS84	Sf/S1	*	*	_
AS85	_	_	?	AS85	?	?	?	?
AS86	_	750/1500	S1/S9	AS86	S1/S9	_	*	*
AS87	450	750/?	Sf/S1	AS87	Sf/S1	*	*	_
AS88	450	850/1500	Sf/S9	AS88	Sf/S9	*	_	*
AS89	_	750/1520	S1/S9	AS89	S1/S9	_	*	*
AS90	450	1500	Sf/S9	AS90	Sf/S9	*	_	*
AS91	450	1500	Sf/S9	AS91	Sf/S9	*	_	*
AS92	450	1500	Sf/S9	AS92	Sf/S9	*	_	*
AS93	450	750	S1/Sf	AS93	S1/Sf	*	*	_
AS94	_	750/?	S1/?	AS94	S1/?	_	?	?
AS95	450	750/850	Sf/S1	AS95	Sf/S1	*	*	_
AS96	_	750/1520	S1/S9	AS96	S1/S9	_	*	*
AS97	_	750/?	S1/?	AS97	S1/?	_	*	?
AS98	450	850/750	S1/Sf	AS98	S1/Sf	*	*	_
AS100	450	850/750	S1/Sf	AS100	S1/Sf	*	*	_

روش مورد استفاده در این پژوهش برای شناسایی و تعیین آلل‌های خودسازگاری مبتنی بر روش PCR بود که امروزه استفاده از روش PCR یک روش دقیق و سریع برای شناسایی و تعیین آلل‌های خودسازگاری و خودناسازگاری از ژنوم DNA ارقام بادام می باشد. این روش، به عنوان یک روش جدید در برنامه‌های اصلاحی بادام در استرالیا مورد استفاده قرار گرفته، به طوری که کداد و همکاران (2008) آلل‌های S را در دو رقم "آلزینا"و "گاروندس" بررسی کردند. قبل از این آزمایش این دو رقم از نظر فنوتیپی به عنوان ارقام خودناسازگار شناخته شده بودند ولی پس از این آزمایش و همچنین مزرعه‌ای به وجود آلل Sf در این دو رقم دست یافته و به عنوان ارقام خودسازگار گزارش شده‌اند [24]. از طرفی نتایج تحقیق حاضر مطابق با گزارش شرفی و همکاران (2012) است که آنها آلل‌های S را در 30 ژنوتیپ دیرگل و مقاوم به آفات بادام با روش PCR و با استفاده از آغازگرهای As1II و Amyc5R و Pru-C2/pru-C5R شناسایی کردند. تمام ژنوتیپ‌ها به غیر از 3 ژنوتیپ خودناسازگار بوده و لذا جمعیت مورد مطالعه نشان دهنده فراوانی و تنوع آلل S در ژنوتیپ‌های بادام است. به

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

عبارتی ارزیابی مولکولی دورگ‌ها به همراه والدین نشان داد که فراوانی آلل‌های S_f، S_1 و S_9 دورگ‌های مورد مطالعه به ترتیب 64%، 72% و 54% بود. ارزیابی اولیه صفات مورفولوژیکی در نتاج نشان داد که بیشتر صفات اندازه‌گیری شده در بین ارقام مورد مطالعه حد فاصل بین والدین قرار دارد. به هر حال با انجام مطالعات دقیق‌تر مزرعه‌ای و آزمایشگاهی، پیرامون تعداد و نوع آلل‌های خودناسازگاری و خودسازگاری در ژنوتیپ بادام می‌توان به منشاء ژنتیکی آن و نیز ژنوتیپ هر یک از آن‌ها پی برد. آگاهی از آلل S و ژنوتیپ ارقام بادام به منظور بیشینه کردن کارایی تلاقی‌ها و نیز توصیه رقم برای احداث باغ‌های جدید ضروری است [37]. میزان عملکرد در ارقام خودسازگار بادام حتی در شرایط دگر گرده افشانی ضعیف نیز بالاست. با توجه به این که دوره نونهالی در بادام حداقل سه سال است، گزینش و غربا ل سازی دانهال‌های خودسازگار به دست آمده در برنامه‌های به نژادی، به کمک روش‌های ملکولی و آغازگرهای اختصاصی از اهمیت زیادی برخوردار است. بنابراین در تحقیق حاضر دورگ‌های خودسازگار شناسایی شده‌اند که می‌توانند در آینده همچنان در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند تا گامی دیگر در جهت شناسایی و معرفی ارقام خود سازگار برای ایجاد کشت‌های تک رقمی و استفاده در برنامه‌های اصلاحی بعدی باشد.

4- نتیجه‌گیری کلی

بررسی تنوع ژنتیکی، تعیین روابط خویشاوندی و تعیین ژنوتیپ خودناسازگاری در ارقام و ژنوتیپ بادام به منظور استفاده از آنها در احداث باغ‌های جدید،انتخاب والدین مناسب در برنامه‌های به‌نژادی و مدیریت کلکسیون‌ها اهمیت زیادی دارد. به همین منظور در پژوهش صورت گرفته شناسایی و غربال‌گری دورگ‌های خودگشن بادام با استفاده از نشانگرهای ملکولی و مورفولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تنوع زیادی برای کلیه صفات در بین دورگ‌های بادام مورد بررسی وجود داشت. نتایج حاصل از شناسایی دورگ‌های خودگشن از میان تعداد 100 دورگ بادام به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و با استفاده ازآغازگرهای اختصاصی که بر اساس توالی نواحی حفاظت شده مکان ژنی خودسازگاری در جنس پرونوس طراحی شده‌اند، نشان داد که از مجموع100 دورگ، 63 دورگ آن تشکیل نوار خود گشنی دادند. نتایج مشابهی توسط آلونسو و همکاران (2005)، کوداد وهمکاران (2008)، عبادی و همکاران (2012) و شرفی و همکاران (2012) گزارش شده است. در این پژوهش، پس از تعیین ژنوتیپ‌های خودناسازگار و خودسازگار در 100 دورگ با روش PCR، گروههای خودناسازگاری بر اساس ژنوتیپ ناسازگاری طبقه‌بندی شدند (جدول 4). تعیین گروه‌های خودسازگار بین دورگ‌ها برای تعیین، انتخاب و استفاده در برنامه‌های اصلاحی برای اصلاح‌گران بادام و انتخاب ارقام مناسب و سازگار از نظر گرده افشانی به عنوان ارقام خود گشن و استفاده از آنها در احداث باغ‌های جدید تجاری بسیار مفید و دارای اهمیت است. از طرفی برای موفقیت آمیز بودن برنامه‌های به‌نژادی و معرفی ارقام جدید با ترکیبی از صفات برتر، تنوع ژنتیکی بالا بین والدین با صفات مطلوب مورد نیاز است. لذا یکی از استراتژی‌های مهم در اصلاح صفات با توارث پذیری کمی مثل دیرگل‌دهی و پرمحصولی استفاده از والدینی است که هر دو والد دارای آن صفت باشند تا انتقال این صفت در نتاج با نسبت بیشتری اتفاق بیفتد. در همین ارتباط تحقیقات نشان داده است که برای دستیابی به ارقام دیرگل خود گشن، تلاقی بین ارقامی که هر دو والد دارای این صفت باشند به مراتب از سایر تلاقی‌ها بیشتر است [12 و 35]. ارزیابی اولیه صفات مورفولوژیکی در نتاج نشان داد که بیشتر صفات اندازه‌گیری شده در بین ارقام

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

مورد مطالعه حد فاصل بین والدین قرار دارد. بنابراین در تحقیق حاضر دورگ‌های خود سازگار شناسایی شده‌اند که می‌توانند در آینده همچنان در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند تا گامی دیگر در جهت شناسایی و معرفی ارقام خود سازگار برای ایجاد کشت‌های تک رقمی و استفاده در برنامه‌های اصلاحی بعدی باشد.

5- منابع

[1] ایمانی ع.، طلایی ع.، وزوایی و.،اسلام مجیدی ا.و غفاری ع. (1376) رشد لوله گرده و تشکیل میوه در رقم بادام ممتاز انتخابی A-82 در اثر خود و دگر گرده افشانی. مجله نهال و بذر.22:13-31

[2] عبادی ع.،کاظم کمالی ک.، فتاحی مقدم م. ، نقوی م. و ایمانی ع. و افقی ح. (1391) تعیین ژنوتیپ‌های خودسازگاربادام حاصل از یک برنامه اصلاحی وتشخیص آلل‌های s در برخی ازارقام وژنوتیپ‌های خارجی بادام با استفاده از روش PCR .مجله بهنژادی نهال و بذر1:1-27

[3] زین العابدینی م. ، خیام نکوئی م. ، ایمانی ع. و مجیدیان پ. (1391). شناسائی ژنوتیپ‌های خودسازگار و خوداسازگار در بادام و برخی از گونه‌های جنس *Prunus* با استفاده از نشانگرهای مولکولی.227:28-238

[4] Al-Ghzawi, A. A., Rawashdeh, I. M., Al-Tawaha, A.R. (2009) Genetic Relatedness among Wild and Cultivated Almond Genotypes Using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers in Jordan. Jordan Journal of Biological Sciences. 2(2): 89 – 96.

[5] Alonso, J.M. and Socias i Company, R. (2005) Self-incompatibility expression in self-compatible almond genotypes may be due to inbreeding. Journal of America Society Horticulture Sciences 130:865–869.

[6] 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.

[7] 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.

[8] 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.

[9] Boskovic, R.I., Tobutt, K., R., Ortega, E., Sutherland, and Godini, B. G. A. (2007) Self-(in)compatibility of the almonds *P. dulicis* and *P. webbii*:detection and cloning of 'wild-type Sf' and new self-compatibility alleles encoding inactive S-RNases. Molecular Genetic Genomics (2007) 278:665–676

[10] 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 dulicis*. Theoretical and Appllied Gentics 103:1115-1122.

[11] 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 dulicis*. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 77(4): 387-392.

[12] 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.

[13] Dicenta, F., García, J.E. and Carbonell, E.A. (1993) Heritability of flowering, productivity and maturity in almond. Journal of Horticulture Sciences 68:113–120.

[14] 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.

[15] Dicenta, F., Ortega, E., Martínez-Gómez, P., Sánchez-Pérez, R., Gambín, M. and Egea, J. (2009) Penta and Tardona: two new extra-late fl owering self-compatible almond cultivars. Acta Hortuculteae 814:189–192.

[16] 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.

[17] 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.

[18] 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

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]

genes *S1* and *S3* for almond (*Prunus dulicis* cv. Ferragnes). Sex Plant Reproduction 14: 163-167.

[30] Momenpour, A., Ebadi, A., Imani, A. (2011) Discrimination of almond self compatible genotypes by different methods in a breeding program in Iran. African Journal of Agricultural Research 6(23): 5251-5260.

[31] 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.

[32] Rahemi, A., Fatahi, R., Ebadi, A., Taghavi, T., Hassani, D., Gradziel, T., and Saparro, J. (2010) Genetic variation of S-alleles in wild almonds and their related Prunus species. AJCS 4(8): 648-659.

[33] Sanchez-Perez, R., Dicenta, F., and Martinez-Gomez, P. (2004) Identification of Salleles in almond using multiple-PCR. Euphytica 138: 263-269.

[34] Sanchez-Pérez, R., Ortega, E., Duval, H., Martinez-Gómez, P., and Dicenta, F. (2007) Inheritance and relationships of important agronomic traits. Euphytica 155: 381–391.

[35] Sharafi, Y., Kafshnochi, M., and Naji, A. M. (2012) Self and cross incompatibility traits analysis in some diseases tolerant almond genotypes by PCR .African Journal of Microbiology Research 6(2):361-364

[36] Socias i Company, R. (1990) Breeding self-compatible almonds. Plant Breeding Review 8: 313-338.

[37] 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.

[38] Tao, R., Yamane, H., Sassa, H., Mori, H., Gradziel, T. M., Dandekar, A. M., and Sugiura, A. (1997) Identification of stylar RNases associated with gametophytic self-incompatibility in almond (*Prunus dulicis*). Plant Cell Physiology 38: 304–311.

[39] 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.

12: 7-19.

[19] Kadkhodaei, S., Shahnazari, M., Khayyam Nekouei, M., Ghasemi, M., Etminani, H., Imani, A., Arbakariya, B., and Ariff, A. (2011) A comparative study of morphological and molecular diversity analysis among cultivated almonds (*Prunus dulicis*). Australian Journal Crop Science 5(1):82-91

[20] Kamali, K., Alonso, J.M., Socias i Company, R., Ebadi, A.,and Fattahi, M.R. (2010) Identification of S-genotypes in almond progenies by NEPHGE and PCR . Options Méditerranéennes, 94:101-104–XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds.

[21] Kester, D.E., and Asay, R. (1975) Almonds, p. 387–419. In: J. Janick and J.N. Moore (eds.):Advances in fruit breeding. Purdue Univ. Press, West Lafayette, IN, USA.

[22] Kester, D.E., Gradziel, T.M., and Grasselly, C.(1990) Almonds (*Prunus*). Acta Hortuculteae 290:699–758.

[23] Kester, D.E., and Gradziel, T.M. (1996) Almonds, p. 1–97. In: J. Janick and J.N. Moore (eds.): Fruit breeding, vol 3, John Wiley & Sons, New York, USA.

[24] 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.

[25] 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.

[26] Lopez, M., Vargas, F. J., and Batlle, I. (2006) Self- (in) compatibility almond genotypes: A review. Euphytica 150(1-2): 1-16.

[27] 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.

[28] 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.

[29] Ma, R. C., and Oliveira, M. M. (2001) Molecular cloning of the self-incompatibility

[Downloaded from biot.modares.ac.ir on 2025-04-23]