ژنتیک نوین
دوره چهاردهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸
صفحه ۲۰۸ - ۱۹۷

# آنالیز بیوانفورماتیک مکان ژنی خودناسازگاری گونه گلابی *Pyrus communis* L. و بررسی آلل‌های مرتبط در برخی از ارقام تجاری و بومی

# Bioinformatic Analysis of Self-Incompatibility Locus in Pear Species *Pyrus communis* L. and Evaluation of the Related Alleles in Some Commercial and Native Cultivars

حمیدعبداللهی*[۱]، سارا صادق‌نژاد[۲]

۱- دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲- کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران

**Abdollahi H*[1], Sadeghniejad S[2]**

1. Associate Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
2. MSc Student, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Azad University Science and Research Unit, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: h.abdollahi@areeo.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۷/٤/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۹/۲۷)

## چکیده

**آلل‌های جدید شناسائی‌شده مکان ژنی خودناسازگاری گلابی معمولی، نام‌گذاری مجدد و همولوژی بالای برخی این آلل‌ها، سبب تداخل در بررسی و طبقه‌بندی آن‌ها شده‌است. تحقیق اخیر با هدف مرور جامع بیوانفورماتیک و بررسی ساختار ژنتیکی کلیه ۲۷ آلل *S* شناسائی‌شده این گونه و بررسی این آلل‌ها در برخی ارقام تجاری و بومی گلابی ایران بر اساس این اطلاعات بیوانفورماتیک و مقایسه با گزارشات قبل انجام شد. نتایج نشان‌دهنده وجود توالی کامل ۲۱ آلل این گونه بود که به‌صورت نواحی ۱۳ گانه شامل پیشرانه، پنج ناحیه حفاظت‌شده C1 تا C5، اینترون و ٦ ناحیه بینابینی خطی و حفاظت‌شدگی قابل‌توجهی در ناحیه پیشرانه و سیگنال، به غیر از نواحی C1 تا C5 مشاهده شد. همچنین در ناحیه پیشرانه اغلب آلل‌ها، حداقل دو جایگاه CAAT و دو جایگاه نزدیک و یا به‌هم چسبیده TAAT مشاهده شد. تجزیه خوشه‌ای بخش‌های مختلف آلل‌ها، بیانگر شباهت کامل پلی‌پپتیدی دو آلل *S119* و *S121* بود، لیکن از نظر اینترون تفاوت جزئی در طول و توالی داشته که دلیل اشتباهات ارزیابی آلل‌های برخی ارقام داخلی نظیر رقم درگزی بود. مقایسه نتایج بررسی آلل‌های خودناسازگاری در برخی از ارقام بومی با استفاده از نتاج بیوانفورماتیک نشان‌داد، استفاده از آغازگرهای اختصاصی، روش کاملاً قابل‌اعتمادی در شناسائی این آلل‌ها خصوصاً در ارقام دارای جریان ژنی دیگر گونه‌ها نیست. بررسی آلل‌های خودناسازگاری ارقام نشان‌دهنده حضور آلل *S104* در ارقام شاهد کوشیا و بوره‌دیل و رقم کروس‌سیحان (Krus Siehan)، *S108* در کروسالون (Krusalun)، *S107* در شاه‌میوه و شکری، *S119* در اسفراینی و درگزی، *S35* گونه *P. ussuriensis* در ارقام کفتربچه، شیرین ترکان و کنجونی و *S19* گونه *P.* × *bretschneideri* به‌عنوان دیگر آلل رقم شکری بود. نتایج ضمن تایید گزارشات قبلی وجود جریان ژنی دیگر گونه‌های گلابی در تکامل ارقام بومی ایران، نشانگر اهمیت بررسی جامع بیوانفورماتیک آلل‌های جنس *Pyrus* در کنار هم بود.**

**واژه‌های کلیدی**

تجزیه خوشه‌ای
تعیین توالی
جریان‌ژنی
رقم بومی
سازگاری گرده

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

## مقدمه

گلابی معمولی (*Pyrus communis* L.) متعلق به زیرخانواده پیرینه (Pyrinae) از خانواده گلسرخیان (Rosaceae) بوده (Morgan 2015) و دارای سیستم خودناسازگاری گامتوفیتیک با یک مکان ژنی (*S*-locus)، واجد تعداد زیادی آلل خودناسازگاری (*S*-allele) است. در این سیستم خودناسازگاری، حداقل دومکان ژنی یکی متعلق به گرده و دیگری متعلق به خامه، عامل شناسائی و ایجاد (نا)سازگاری گرده می‌باشد (de Nettancourt 1977). بر اساس این مدل، یک یا چند جایگاه ژنی باروری (F-box) متعلق به هاپلوتایپ گرده و یک ریبونوکلئاز خامه معروف به *S*-RNase (Broothaerts et al. 1995) تعیین‌کننده اثر متقابل سازگاری گرده و خامه می‌باشند.

اولین بررسی پلی‌پپتیدهای حاصل از مکان‌ژنی خودناسازگاری در گلابی معمولی (*P. communis*)، توسط Tomimoto et al. (1996) روی هشت رقم از ارقام این گونه انجام شد و ضمن تعیین آلل‌های *S1* تا *S9* بدون در نظر گرفتن ماهیت نوکلئوتیدی آن‌ها، برای اولین بار از سیستم نام‌گذاری شماره‌ای آلل‌ها استفاده شد. هم‌چنین بررسی تنوع این آلل‌ها در گلابی با استفاده از روش توالی‌یابی توسط Zuccherelli et al. (2002) روی ۱۰ رقم از ارقام گلابی اروپائی با استفاده از آغازگرهای آلل‌های خوناسازگاری سیب انجام و آلل‌های *Sa*، *Sb*، *Sc*، *Sd*، *Se* و *Sh* شناسائی شدند. Sanzol and Herero (2002) به بررسی S-ژنوتایپینگ ارقام گلابی معمولی با استفاده از سازگاری گرده پرداخته و آلل‌های *S1* تا *S4* را بدون در نظر گرفتن ماهیت مولکولی آن‌ها مشخص کردند. هم‌چنین در بررسی Zisovich et al. (2004) آلل‌های *Si*، *Sj*، *Sk*، *Sl*، *Sm*، *Sn*، *So* و *Sp* در این گونه شناسائی و گزارش شد. Moriya et al. (2005) همانند بررسی Tomimoto et al. (1996) به بررسی ساختار آللی ارقام گلابی معمولی با استفاده از تلاقی ارقام پرداخته و بدون بررسی مولکولی ساختار آللی، نتایج قبلی به‌دست آمده را مورد تایید قرار دادند. Takasaki et al. (2006) به بررسی توالی کامل cDNA حاصل از ۹ عدد از آلل‌های خودناسازگاری گلابی معمولی پرداخته و دو آلل جدید *Sq* و *Sr* را گزارش کردند. در این بررسی هم‌چنین مشخص شد که *Se* و *Sj* (*S1* یا *S101*) آلل‌های مشابهی هستند که به اشتباه جداگانه تفکیک شده‌اند. بر اساس این تحقیق، توالی نوکلئوتیدی کامل تعداد قابل توجهی از آلل‌های خودناسازگاری این گونه مشخص و به امانت گذاشته شد. Morya et al. (2007) آلل‌های *Sg*، *Ss* و *St* را در گلابی معمولی گزارش و آخرین گروه آللی این گونه را که با استفاده از حروف مشخص می‌شد تعیین نمودند. همچنین توالی نوکلئوتیدی کامل تعدادی از آلل‌های خودناسازگاری این گونه مشخص شد. Mota et al. (2007) به بررسی آلل‌های خودناسازگاری رقم گلابی غالب کشور پرتغال معروف به رقم روکا (Rocha) و هشت رقم دیگر متعلق به گونه گلابی معمولی پرداختند، لیکن هیچ آلل جدید و یا توالی کاملی را گزارش نکردند. Sanzol and Robbins (2008) برای تبدیل سیستم نامگذاری حرفی این آلل‌ها به عددی به صورت *S1* تا *S14* اقدام و برخی از آلل‌ها را نیز به‌صورت توالی کامل به امانت گذاشتند. در نهایت در مرور اطلاعات قبلی و نام‌گذاری مجدد آلل‌های خودناسازگاری گلابی معمولی توسط Goldway et al. (2008) تمامی آلل‌های ۱۹ گانه این گونه که به‌صورت *Sa*، *Sb*، *Sc*، *Sd*، *Se*، *Sg*، *Sh*، *Si*، *Sj*، *Sk*، *Sl*، *Sm*، *Sn*، *So*، *Sp*، *Sq*، *Sr*، *Ss* و *St* نام‌گذاری شده بودند و در بررسی Sanzol and Robbins (2008) برخی از آن‌ها بر اساس روش شماره‌ای از *S1* تا *S14* تغییر نام داده بود اقدام شد. به‌علاوه آلل‌های *Sm*، *Sn*، *So*، *Sq* و *Sr* که در نام‌گذاری شماره‌ای وارد نشده بودند، بر اساس توافق کلیه گروه‌های تحقیق کننده در رابطه با این آلل‌ها در گلابی معمولی، به‌صورت *S101* تا *S119* نام‌گذاری مجدد شدند، با این استثناء که به‌دلیل عدم وجود آلل *Sf*، از نام‌گذاری آلل *S112* اجتناب شد (جدول ۱).

پس از نام‌گذاری سه شماره‌ای آلل‌های خودناسازگاری گونه گلابی معمولی توسط Goldway et al. (2008) که به‌منظور جلوگیری از تداخل نام این آلل‌ها با آلل‌های دیگر گونه‌های گلابی، به‌ویژه آلل‌های گونه گلابی آسیائی (*P. pyrifolia*) انجام گرفت، آلل‌های بعدی بر اساس نام‌گذاری جدید تعیین شدند. در بررسی Sanzol (2009b)، آلل‌های *S120* و *S121* به‌ترتیب در ارقام بلادی‌جونیو (Bella di Giugno) و دلبونا (Delbuena) گزارش شدند. هم‌چنین در بررسی دیگر Sanzol, (2009a)، آلل‌های *S122*، *S123*، *S124* و *S125* (با نام‌های *S23*، *S24* و



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

*S25*) شناسائی و گزارش شدند. De Franceschi et al. (2012) به مرور کامل ساختار اثر متقابل S-RNase خامه و جایگاه ژنی باروری (F-box) متعلق به هاپلوتایپ گرده در زیرخانواده گلابی‌سانان پرداختند. در نهایت جدیدترین آلل‌های خودناسازگاری گونه *P. communis*، به نام‌های *S126*، *S127* و *S128* در شماری از ارقام گلابی بومی ایران توسط Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) شناسائی و به امانت گذاشته شدند. در این بررسی برای اولین بار با توجه به گزارشات قبلی جریان ژنی دیگر گونه‌های گلابی در برخی ارقام، از نام‌گذاری جدید ادغام نام‌گونه و نوع آلل استفاده شد.

در بررسی آلل‌های خودناسازگاری گلابی معمولی، برخی آلل‌ها به صورت توالی‌کامل و برخی به‌صورت توالی ناقص به امانت گذاشته شده‌اند. Takasaki et al. (2006) و Moriya et al. (2007) جمعاً ۱۷ آلل خودناسازگاری گلابی معمولی را گزارش و همچنین ساختار عمومی ژنتیکی این آلل‌ها را با آلل‌های خودناسازگاری سیب‌سانان (Maloideae) مورد مقایسه و شباهت آن‌ها را تایید کردند. بر اساس این بررسی‌ها، ساختار عمومی وجود پنج ناحیه حفاظت شده C1–C3، RC4 و C5، وجود یک ناحیه دارای تنوع بسیاربالا (hyper-variable region-HVR) در بین ناحیه C3 و اینترون، و همچنین یک ناحیه اینترونی واحد با طول و توالی بسیار متغیر همانند آن‌چه در خانواده‌های به غیر از گلسرخیان، نظیر سولاناسه (*Solanaceae*) دیده می‌شود، به اثبات رسید.

جدول ۱- فهرست کلیه آلل‌های شناسائی شده خودناسازگاری در گونه گلابی معمولی (*Pyrus communis*) تا سال ۱۳۹۵.

| آلل *S* (اولین نامگذاری) | آلل *S* (نامگذاری شماره‌ای) | آلل *S* (آخرین نامگذاری) | اولین گزارش | رقم نمونه | توالی موجود | شماره دسترسی | طول اینترون (bp) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Sj/Se* | *S1* | *S101* | Zuccherelli et al. 2002 | Williams | Complete | AB236428 | 786 bp |
| *Sl* | *S2* | *S102* | Zisovich et al. 2004 | Chaplin | Complete | AB236425 | 1211 bp |
| *Sk* | *S3* | *S103* | Zisovich et al. 2004 | Spadona | Complete | AB236432 | 1093 bp |
| *Sb* | *S4* | *S104* | Zuccherelli et al. 2002 | Comice | Complete | AB236429 | 246 bp |
| *Sa* | *S5* | *S105* | Zuccherelli et al. 2002 | Abate Fetel | Complete | AB236430 | 145 bp |
| *Si* | *S6* | *S106* | Zisovich et al. 2004 | Gentile | Complete | AB258361 | 177 bp |
| *Sh* | *S7* | *S107* | Zuccherelli et al. 2002 | Beurré Bosc | Complete | AB236431 | 151 bp |
| *Sd* | *S8* | *S108* | Zuccherelli et al. 2002 | Conference | Complete | AB236427 | 170 bp |
| *Sp* | *S9* | *S109* | Zisovich et al. 2004 | Acka | Complete | AB258364 | 157 bp |
| *Sg* | *S10* | *S110* | Morya et al. 2007 | PasseCrassan | Complete | AB258360 | 1736 bp |
| *Ss* | *S11* | *S111* | Morya et al. 2007 | Comte Flandr | Complete | AB258365 | 167 bp |
| --- | *S12* | *S112* | Not nominated | --- | --- | --- | --- |
| *St* | *S13* | *S113* | Morya et al. 2007 | Old Home | Complete | AB258366 | 1116 bp |
| *Sc* | *S14* | *S114* | Zuccherelli et al. 2002 | Kaiser | Complete | AB258359 | 136 bp |
| *Sm* | *S15* | *S115* | Zisovich et al. 2004 | Chaplin | Complete | AB258362 | 154 bp |
| *Sn* | *S16* | *S116* | Zisovich et al. 2004 | Forelle | Complete | AB258363 | 163 bp |
| *So* | *S17* | *S117* | Zisovich et al. 2004 | Lawson | Partial | ---* | 1091 bp |
| *Sq* | *S18* | *S118* | Takasaki et al. 2006 | General Leclerc | Complete | AB236424 | 1083 bp |
| *Sr* | *S19* | *S119* | Takasaki et al. 2006 | PasseCrassan | Complete | AB236426 | 149 bp |
| --- | *S20* | *S120* | Sanzol, 2009b | Bella di Giugno | Partial | ---* | 310 bp |
| --- | *S21* | *S121* | Sanzol, 2009b | Conference | Complete | EU477839 | 153 bp |
| --- | *S22* | *S122* | Sanzol, 2009a | Cure | Complete | AB779646 | 179 bp |
| --- | *S23* | *S123* | Sanzol, 2009a | Conseiller | Partial | ---* | 147 bp |
| --- | *S24* | *S124* | Sanzol, 2009a | Green Summer | Partial | ---* | 106 bp |
| --- | *S25* | *S125* | Sanzol, 2009a | Ceremeño | Complete | AB731592 | 3130 bp |
| --- | *S26* | *S126* | Nikzad Gh.et al. 2014 | Shah Miveh | Complete | KF588567 | 176 bp |
| --- | *S27* | *S127* | Nikzad Gh.et al. 2014 | Ghosi | Partial | ---* | 251 bp |
| --- | *S28* | *S128* | Nikzad Gh.et al. 2014 | Domkaj | Partial | ---* | 147 bp |

* در رابطه با آلل‌های *S117*، *S120*، *S123*، *S124*، *S127* و *S128* توالی‌های کامل در بانک‌های اطلاعاتی یافت نشد، لیکن به‌ترتیب کامل‌ترین توالی‌های موجود در بانک‌های اطلاعاتی به‌ترتیب با کدهای دسترسی شامل: AY261994 (1628 bp) برای *S117*، EU118758 (752 bp) برای *S120*؛ EU118761 (600 bp) برای *S123*؛ EU118762 (601 bp) برای *S124*؛ KF588568 (706 bp) برای *S127* و KF588569 (599 bp) برای *S128* بودند.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

از طرفی توالی دقیق نواحی C1 تا C5 از نظر ناحیه ابتدائی و انتهائی مورد توافق نیست، به صورتی‌که Goldway et al. (2008) توالی پلی‌پپتدی FTQQYQ با طول ٦ اسید آمینه را به‌عنوان ناحیه C1 مورد بررسی قرار دادند، در حالی‌که Nikzad (2014) Gharehaghaji et al. توالی پلی‌پپتدی DYFQFTQQYQPA با طول ۱۲ اسیدآمینه، به‌عنوان ناحیه C1 معرفی نمودند، که نشانگر عدم وجود یک توافق عمومی، چه در رابطه با گونه گلابی معمولی و حتی در سطح بالاتر در بین خانواده‌های گیاهی در رابطه با محدوده دقیق نواحی حفاظت شده C1 تا C5 است.

با توجه به شناسائی اخیر شماری از آلل‌های خودناسازگاری گونه گلابی معمولی، نام‌گذاری‌های متنوع انجام شده روی این آلل‌ها و در نهایت قرابت ژنتیکی برخی از ارقام ایران با گونه‌های شرقی، این تحقیق با هدف مرور کامل بیوانفورماتیک، تعیین خلاءهای تحقیقاتی در زمینه تعیین توالی کامل، بررسی وجود مناطق حفاظت شده در منطقه پیشرانه مکان ژنی خودناسازگاری و یا قبل از ناحیه C1 و هم‌چنین انتهای ژن و در نهایت مقایسه نتایج حاصل از دو روش ارزیابی نوع آلل خودناسازگاری با استفاده از آغازگرهای اختصاصی و تعیین توالی انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور دستیابی به کامل‌ترین توالی آلل‌های خودناسازگاری امانت گذاشته‌شده در بانک اطلاعاتی و ترجیحاً واجد بخشی از پیشرانه، با استفاده از تارنمای مرکز ملی اطلاعات زیست‌فن‌آوری (National Center for Biotechnology Information-NCBI) از میان ۱۵۰ توالی کامل و ناقص (Partial) موجود، کامل‌ترین توالی‌ها بر اساس جستجو با نام آلل انتخاب شدند. با توجه به عدم دسترسی مستقیم به همه توالی‌ها کامل از روش فوق، نسبت به بررسی دقیق مقالات Zuccherelli et al. (2002)، (2004) Zisovich et al.، Takasaki et al. (2006)، Moriya et al. (2007)، Mota et al. (2007)، Sanzol and Robbins (2008)، Goldway et al.(2008)، Sanzol, (2009a,b) و Nikzad (2014) Gharehaghaji et al. پرداخته شد و کددسترسی آلل‌های به امانت گذاشته شده و گزارش شده استخراج شدند.

کلیه آلل‌های ۲۷ گانه گلابی معمولی مشتمل بر *S101* تا *S128* (به غیر از *S112* که تاکنون آللی با این شماره نام‌گذاری نشده‌است) واجد کامل‌ترین توالی (جدول ۱)، با استفاده از هم‌ردیف کردن (Alignment)، پنج ناحیه حفاظت شده C1 تا C5 روی توالی نوکلئوتیدی آنها شناسائی شد و سپس با استفاده از ترجمه نوکلئوتید به پلی‌پپتید در تارنمای اکسپازی (Expasy)، توالی پلی‌پپتیدی نواحی حفاظت شده فوق مشخص شد. با توجه به وجود ناحیه دارای تنوع بسیاربالا (hyper-variable region-HVR) روی توالی‌های نوکلئوتیدی در بین ناحیه C3 و اینترون و خود ناحیه اینترون با طول و توالی بسیار متفاوت، خطی‌کردن آلل‌ها و مقایسه آن‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای خطی‌کردن غیرممکن بود، لذا نواحی ۱۳ گانه شامل پیشرانه، ناحیه سیگنال، ناحیه C1 تا C2، ناحیه C2 تا اینترون، ناحیه اینترونی، ناحیه انتهای اینترون تا C3، ناحیه C3 تا RC4، ناحیه RC4 تا C5 و در نهایت ناحیه C5 تا انتهای ژن همراه با پنج ناحیه حفاظت شده، به‌صورت دستی تفکیک و جداسازی و سپس هر واحد به‌صورت مستقل به‌صورت چندگانه هم‌ردیفی (Multiple Alignment) شدند. خطی کردن توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار تحت وب مولتالین (MultAlin) (Corpet 1988) و ارزیابی پیشرانه با نرم‌افزار Plant-Care انجام شد.

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۱۱ رقم تجاری گلابی بومی و وارداتی کشور بودند. تمامی ارقام انتخابی بر اساس خصوصیات ظاهری متعلق به گونه گلابی معمولی یا *P. communis* بوده، لیکن در ارزیابی مولکولی این ارقام با استفاده از نشانگر مولکولی توالی‌های ساده تکراری توسط Erfani et al. (2012)، ارقام بومی مد نظر قرار گرفتند که با گونه‌های شرقی، قرابت نشان داده بودند. بر این اساس، ارقام درگزی، شیرین‌ترکان، شاه‌میوه، کفتربچه، کنجونی، شکری، اسفراینی و دو رقم شاهد اروپایی کوشیا (Coscia) و بوره دیل (Beurre Diel) و دو رقم منشاء گرفته از آسیای مرکزی شامل کروس‌سیحان (Krus siehan) و کوروسالون (Krusalun) انتخاب و استخراج DNA ژنومی روی برگ‌های جوان آن‌ها با روش ترکیبی CTAB و SDS انجام شد (Khoramdel Azad et al. 2008). ارزیابی غلظت و میزان خلوص DNA استخراج شده، با استفاده از روش



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

اسپکتروفتومتریک، به‌صورت ارزیابی میزان جذب در طول موج‌های ۲۳۰ و ۲۶۰ نانومتر انجام شد. گزینش آغازگرهای مورد استفاده بر اساس حداکثر طول تکثیر مکان ژنی، هدف قرار گرفت و با بررسی در منابع مختلف، سه جفت آغازگر انتخاب شدند. این آغازگرها شامل جفت آغازگر Sall، ارائه شده توسط Mota et al. (2007) و جفت آغازگرهای FB، ارائه شده توسط Babaei et al. (2012) بودند. از بین آغازگرها، جفت آغازگر Sall-F (5'-TTTACGCAGCAATATCAGC-3') و FB-R1 (5'-GCATTTTCAATATCCA(C/A)CAG-3') که از نظر طول، حداکثر قدرت تکثیر را داشت انتخاب شدند. پس از هم‌ردیفی این آغازگرها با توالی‌های هدف، مشخص شد که آغازگر پیشرو گزینش شده در منطقه C1 و آغازگر پیرو آن در ناحیه نیمه‌حفاظت شده ۵۳ نوکلئوتید پایین دست انتهای منطقه حفاظت شده RC4 قرار دارد که گستره قابل توجهی از کلیه آلل‌ها را پوشش می‌دهد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر اپندورف (Eppendorf) مدل MasterCycler-Gradient روی DNA ارقام گلابی انجام گرفت. به‌منظور تعیین آلل‌های خود ناسازگاری از روش توالی‌یابی محصولات حاصل استفاده شد. جفت آغازگر مورد استفاده از شرکت متابیون (Metabion) تهیه و رقیق‌سازی آن‌ها با آب مقطر دی‌یونیزه و براساس OD ارائه شده آغازگر در غلظت ۱۰ میکرومولار انجام شد. سایر مواد مورد نیاز واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل ۲۰ پیکومول $MgCl_2$، ۱۰۰ نانوگرم DNA بوده و همچنین در هر واکنش، غلظت هر آغازگر پنج میکرولیتر به ازاء هر واکنش ۲۵ میکرولیتری بود. سایر اجزاء ثابت واکنش PCR، به میزان ۰/۵ میکرولیتر بافر واکنش ۱۰ برابر غلظت (10X)، یک واحد آنزیم DNA پلی‌مراز و ۰/۵ میکرولیتر از محلول مادری dNTPs با غلظت ۱۰ میلی‌مولار بود. به منظور مشاهده و اندازه‌گیری وزن باندهای حاصل، از دستگاه الکتروفورز افقی با ژل آگارز یک درصد استفاده و با ولتاژ ۸۵ ولت باندها تفکیک شدند. به‌منظور شناسایی نوع آلل‌های خودناسازگاری تکثیر شده، محصولات PCR توسط کمپانی بایونیرکره جنوبی توالی‌یابی شدند. توالی‌های به‌دست آمده، در نرم‌افزار بیوادیت (BioEdit) ویرایش و میزان تشابه توالی‌های شناسای شده با آلل‌های مختلف، درنرم‌افزار بلاست بررسی شد. آنالیز خوشه‌ای توالی پلی‌پپتیدی با استفاده از نرم‌افزار مگا (MEGA) نسخه ۷، انجام گرفت.

## نتایج و بحث

بررسی اطلاعات بیوانفورماتیک موجود در بانک اطلاعاتی مرتبط با آلل‌های مکان ژنی خودناسازگاری نشان داد که از ابتدای بررسی مولکولی این آلل‌ها توسط Zuccherelli et al. (2002) روی ۱۰ رقم از ارقام گلابی اروپائی در سال ۲۰۰۲، تا آخرین بررسی و شناسائی این آلل‌ها توسط Nikzad (2014) Gharehaghaji et al. در سال ۲۰۱٤، تعداد ۲۷ آلل که ۱۹ آلل در ابتدا به‌صورت حرفی که به شکل *Sa*، *Sb*، *Sc*، *Sd*، *Se*، *Sg*، *Sh*، *Si*، *Sj*، *Sk*، *Sl*، *Sm*، *Sn*، *So*، *Sp*، *Sq*، *Sr*، *Ss* و *St* نام‌گذاری شده‌اند وجود دارد (جدول ۱). متعاقب آن Sanzol and Robbins (2008) این آلل‌ها بر اساس روش شماره‌ای، از *S1* تا *Sn* نامگذاری کردند و توسط Goldway et al. (2008) به‌صورت سه شماره‌ای از *S101* به بعد نام‌گذاری آن‌ها تجدید شد. تازه‌ترین شناسائی آلل‌های مکان ژنی خودناسازگاری این گونه بر اساس بررسی Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) تعیین کننده وجود سه آلل جدید در ارقام بومی ایران شامل آلل *S126* در رقم شاه میوه، *S127* در رقم قوسی از خراسان و *S128* در رقم دمکج کرج بود (جدول ۱). این امر نشان دهنده این مطلب است که با توجه به اینکه اغلب ارقام مورد بررسی در ارزیابی‌های قبلی، ارقام مربوط به اروپا، خصوصاً اروپای غربی بوده، در صورت بررسی ارقام بومی متعلق به گونه گلابی معمولی یا *P. communis* که متعلق به سایر نواحی تنوع ژنتیکی این گونه است، احتمال بالائی برای اضافه شدن سایر انواع آلل‌های این مکان ژنی، وجود دارد. هم‌چنین این بررسی نشان داد که از مجموع ۲۷ آلل شناسائی شده، تعداد ۲۱ آلل به‌طور کامل تعیین‌توالی شده‌اند و در رابطه با سایرین توالی کامل موجود نیست (جدول ۱). آلل‌های دارای توالی ناقص که لازم است در بررسی‌های تکمیلی به‌طور کامل تعیین توالی شوند شامل آلل‌های *S117*، *S120*، *S123*، *S124*، *S127* و *S128* می‌باشند، لیکن با توجه به اینکه میزان همولوژی و طراحی آغازگرها تاکنون بیش‌تر بر اساس هم‌ردیفی نواحی



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

حفاظت شده C1 تا C5 در این گونه انجام گرفته بود، شش عدد از توالی‌های به امانت گذاشته شده از این مکان ژنی به‌صورت ناقص و پس از ناحیه C1 شروع و تا بخش‌های نیمه انتهائی ژن، یعنی نواحی RC4 تا C5 را مورد پوشش قرار می‌دهد. بر این اساس، در صورت وجود مناطق حفاظت‌شده روی نواحی پیشرانه این مکان ژنی و یا نواحی انتهائی و بعد از منطقه C5، این نواحی می‌تواند به‌منظور ارزیابی توالی کامل آلل‌ها مد نظر قرار گیرد. استخراج، ارزیابی و مقایسه ناحیه پیشرانه مکان ژنی خودناسازگاری نشان داد که از میان ۲۷ آلل شناسائی‌شده در این گونه، بخش ناحیه پیشرانه آن‌ها در ۲۰ آلل لیست شده در جدول ۲، موجود است که کوتاه‌ترین ناحیه پیشرانه تعیین‌توالی شده مربوط به آلل *S126* با ۱٤ نوکلوئوتید و بلندترین آن مربوط به آلل *S121* با بیش از ۸۳ نوکلوئوتید بود.

در بررسی ناحیه پیشرانه گیاهان (همانند دیگر یوکاریوت‌ها) مشخص شده که در حدود ۲۵ نوکلئوتید بالادست شروع رونویسی (atg)، جایگاه تاتا (TATA) با توالی معمول 5′-T(C/G)TATA(T/A)A1-3(C/T)A-3′ قراردارد (Heldt 2005). ارزیابی ناحیه پیشرانه‌ای آلل‌های فوق حاکی از وجود دو جایگاه TAAT تقریباً یا کاملاً مجاور در حدود ۲۹ نوکلئوتید بالادست شروع رونویسی با توالی مرکزی taat بود (جدول ۲). هم‌چنین جایگاه پیشرانه‌ای مهم دیگر جایگاه کات (CAAT) است که بررسی‌های عمومی نشان‌داده که این جایگاه حدود ۸۰ تا ۱۱۰ نوکلئوتید با توالی معمول 5′-(C/T)AA1-4(T/G)NGA2-4(C/T)(C/T)-3′ بالادست شروع رونویسی (atg) قراردارد (Heldt 2005).

جدول ۲- مقایسه جایگاه‌های TATA و CAAT در ناحیه‌های پیشرانه‌ای مکان ژنی خودناسازگاری (S) در آلل‌های مختلف این مکان ژنی در گونه گلابی *Pyrus communis* L.

| آلل S | توالی ناحیه پروموتوری (5′-3′) قابل دسترس |
|---|---|
| *S101* | ccaccaccacttcaaatcgatctaattagtaatcaatctgcctcgctcttgaacaaatattattca |
| *S102* | tacttcagatcaatctaattagtaatttatctcccccgctattgaacaaatatttttcg |
| *S103* | tccacactaccaccactactacttcagatggatcaaattagtaattaatctgcctcgttttgagcaaacattattca |
| *S104* | caaattagtaattaatctgcctcgctcttgaataaatattattca |
| *S105* | atcagcaccactactacttcaaatcgatctgattagtaatattaatctgcctcgcacttgaacaaatattattca |
| *S106* | caaattagtaattaatatgcctcggtcttgaacaaatattattca |
| *S107* | cttcaaatgcatcaaattagtaattaatttgcctcgctcctgaacaaatattattca |
| *S108* | cctctactacttcaaaagttcaaatcgatctaattagtaattaatcttcctcgctcttgaacaaattaatattattca |
| *S109* | caaattagtaattaatatgcctcagtcttgaacaaatattattca |
| *S110* | tcggccttgcccatgaacgaatattattca |
| *S111* | tttgtaattaatctgccttgctacagaacaaattaattca |
| *S113* | ccctcgctcttgaataaatatttttcg |
| *S114* | aaaagttcaaacggatgtaattagtaattaatctgcctcgctcttgaacaaatattattca |
| *S115* | taaattaatctgcctcgcccttgaacaaatattattca |
| *S116* | aacggatcaaattgataattaatatgcctcggtcttaaacaaatattattca |
| *S118* | atccacactaccaccactactacttcaaatggatcaaattagtaattaatctgcctcgctgttgaacaaacattattca |
| *S119* | acggatccaaccaccgcctacaactacttcaaatggatcaaattaataattaatatgcctcggtcttggcaaatattattca |
| *S121* | cggatccacaccaccgcctacaactacttcaaatggatcaaattaataattaatatgcctcggtcttgagcaaatattattca |
| *S125* | caccactactacttcaaatggatcaaatgagtaattaatttgcctcgctcttgaacaaatattattca |
| *S126* | Acaaatattattca |
| *Cons* | caaattagtaattaatctgcCtcgctcttgaacaAAtaTtaTTCa |

-با توجه به‌طول کم ناحیه تعیین توالی شده پیشرانه‌ای آلل‌های *S110*، *S113* و *S126* این ناحیه دراین بررسی در هم‌ردیفی ناحیه پیشرانه‌ای مکان ژنی خودناسازگاری مدنظر قرار نگرفت.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

جدول ۳- مقایسه توالی نوکلئوتیدی نواحی حفاظت شده پنج‌گانه مکان ژنی خودناسازگاری در آلل‌های مختلف *S101* تا *S128* متعلق به گونه *Pyrus communis* L.. منطقه مشخص شده با رنگ خاکستری در ناحیه حفاظت شده C1 در آلل *S101*، بیانگر محل اتصال آغازگر پیشرو Sall-F (Mota et al. 2007) است.

| ناحیه حفاظت‌شده C5 | ناحیه حفاظت‌شده RC4 | ناحیه حفاظت‌شده C3 | ناحیه حفاظت‌شده C2 | ناحیه حفاظت‌شده C1 | آلل |
|---|---|---|---|---|---|
| attgaattggtcgaggtcagtctttgcagc | aaacaaaacgtctctcaaatcctatcc | ttctggaataaacagtgggacaaacatggcacctgtgggtat | aaattgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S101 |
| accgaattggttgaggtctcactttgcagc | aagcaaaacgtctcttatatcctatcc | ttctggaaaaaacagtgggacaaacatggcacctgtgggtct | aagttgtttacggttcacggattatggccttca | gattatttgcaatttacacagcaatatcag | S102 |
| actgaattggttgaggtcggtctttgtagc | aaacaaaacgtctctgaaatcctctca | ttctggcgtaaacagtggcgtaaacatggcgcctgtgggtac | aagttgtttacggttcatggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S103 |
| actgaattggttgaggtcggtctttgcagc | aaacaaaacgttctctgaaatcctctca | ttctggcgtaaacagtgggataaacatggctcctgtgcgtct | aagttgtttactgttcacggtttgtggccttca | gattattatcaatttacgcagcaatatcag | S104 |
| actgaattggttgaggtcactatttgtagc | aaacaaaacgtctctgaaatcctctca | ttctggaataaacagtggaacaaacatggcagctgtgggcgt | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S105 |
| acagaattggttgagatcagtctttgtagc | aaacaaaacgtctctgaaatcctctca | ttctggaataaacagtggataaaacatggcagctgtggcaat | aagttatttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacacagcaatatcag | S106 |
| actgaattggttgagatcactctttgcagc | aaacaaaacgtctctcgaatcctctca | ttctggagtagacagtggaaaaaacatggcgcctgtgggtat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S107 |
| actgaattagttgaggtcactctttgcagt | aaacaaaacgtctctgcaattctctcg | ttctggaaagagagtggctcaaacatggcacctgcgggtat | aaattgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S108 |
| actgaattggttgagatcagtctttgcagc | aaacaaaacgtctctggaatcctctca | ttctggaataaacagtggataaaacatggcagctgtgggaat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S109 |
| actgaattggttgaggtcactctttgcagc | aaacaaaacgtttttgaaatcctctca | tttctggagtaaacagtggcaaaacatggcatctgtgggtct | aaattgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttcacgcatcaatatcag | S110 |
| actgaattggttgaggtcactctttgcagt | aaacaaaacgtctctgcaatcctctca | ttctggaaaaagagtggatcaaacatggcacctgcgggtat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S111 |
| attgaattggttgaggtctctctttgcagc | aagcaaaacgtctcttatatcctatcc | ttctggaaaaaacagtgggacaaacatggcacctgtgggtct | aagttgtttacggttcacggattgtggccttca | gattatttgcaatttacgcagcaatatcag | S113 |
| actgaattggttgaggtcactctttgcagc | aaacaaaacgtctctaaaatcctctca | ttctggaaacacagtgggaaaaacatggcacctgtgggggt | aagttgtttacggttcatggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S114 |
| attgaattggttgaggtcactctttgcaac | aaacaaaacgtctctaaaatcctctca | ttctggaataaacagtggaacaaacatggcagctgtgggtat | aagttgtttacggttcacggtttatggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S115 |
| actgaattagttgaggtcagtctttgcagc | aaacaaaacgtctctgaaataactctcaa | ttctggaataaacagtggataaaacatggcagctgtgggtat | aagttgttcacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S116 |
| actgaattggttgaggtcggtctttgcagc | aaacaaaacgtctctgaaatcctctca | ttctggcgtaaacagtggcgtaaacatggcgcctgtgggtac | aagttgtttacggttcatggtttgtggcctca | ----------tttacgcagcaatatcag | S117 |
| actgaattggttgaggtcggtatttgcagc | aaacaaaacgtctctgaaatcctctta | ttctggcgtaaacagtggcgtaaacatggcacctgtgggtac | aagttgtttacggttcatggtctgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S118 |
| actaaattggttgagatcagtctttgcagc | aaacaaaacgtctctggaatcctctca | ttctggaataaacagtggataaaacatggcagctgtgggaat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S119 |
| ---------- | aaacaaaacgtctcttacatcctctca | ttctggcgtaaacagtggtataaacatggctcctgtgcgtctc | aagttatttacggttcacggtttgtggccttca | ---------- | S120 |
| actaaattggttgagatcagtctttgcagc | aaacaaaacgtctctggaatcctctca | ttctggaataaacagtggataaaacatggcagctgtgggaat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S121 |
| actgaattagttgagatcactctttgcagt | aaacaaaacgtctctggaatcctctca | ttctggataaagagtggatgaaacatggcacctgtgggtat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacccagcaatatcag | S122 |
| ---------- | agacaaaacgtctctgaaatcctctca | ttctggaataaacagtggaacaaacatggcagctgtgggcat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | ---------- | S123 |
| ---------- | aaacaaaacgtctcaaaaatcctctca | ttctggaataaacagtggaacaaacacggcagctgtgggtat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | ---------- | S124 |
| actgaattagttgaggtccctctttgcagc | aaacaaaacgtctctaaaatcctctca | ttctggcgtagacagtggataaaacatggcactgtgggtat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S125 |
| actgaattggttgaggtcactcttgcagcg | aaacaaaatgtctccaaaatcctcgca | ttctgggatagacagtggaaaaaacatggcagctgtgggcgt | aagttgtttacggtgcacggtttgtggccttca | gattattttcaatttacgcagcaatatcag | S126 |
| ---------- | aaacaaaacgtctctgaaatcctctca | ttctggcgtaaacagtggagagaaacatggctcctgtgcgtct | aagttgtttactgttcacggtttgtggccttca | ---------- | S127 |
| ---------- | aaacagaacgtctctcgaatcctctca | ttctggaatagacagtggacaaaacatggcacctgtgggtat | aagttgtttacggttcacggtttgtggccttca | ---------- | S128 |
| ActgAATTgGTtGAGgTCactcTTtgcagt | AaaCAaAAcGTcTctgaaATcCTctca | TTcTGGaatAaAcAGTGGaacAAACAtGGCtccTGtgggtat | AAgTTgTTtACgGTtCAcGGtttTgTGGCcTTCA | gattattttcaaTTtACgCAgCAATATCAG | Cons. |

در موارد وجود خط زیر نوکلئوتید، در توالی نوکلئوتیدی خطا در توالی به امانت گذاشته شده در بانک اطلاعاتی وجود داشت.



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

ارزیابی ناحیه پیشرانه‌ای آلل‌های فوق نشان داد که برخلاف معمول، در ناحیه پیشرانه‌ای این مکان ژنی دو جایگاه CAAT، یکی در حدود ٤٠ و دیگری در حدود ٨ نوکلئوتید بالادست شروع رونویسی با توالی مرکزی caaat وجود دارد (جدول ٢). بررسی هم‌ردیفی ناحیه پیشرانه‌ای آلل‌های فوق بیانگر وجود نواحی حفاظت‌شده‌ای، دقیقاً در بالادست ناحیه شروع رونویسی است. هم‌چنین با توجه به وجود ١٨ نوکلئوتید با میزان حفاظت شدگی زیاد در بالادست شروع رونویسی، همراه با کد شروع رونویسی (atg)، کدکننده اسیدآمینه متیونین (M) و وجود یک ناحیه کدکننده (ggg) گلیسین (G) در پائین دست کدشروع رونویسی تقریباً تمامی آلل‌های فوق، نشان‌دهنده این است که در گونه گلابی معمولی یا *P. communis* ناحیه پیشرانه‌ای می‌تواند دربردارنده نواحی مناسبی برای طراحی آغازگرهای عمومی برای تکثیر این آلل‌ها با هدف تعیین توالی کامل از ابتدای محل آغاز رونویسی باشد.

مقایسه توالی نوکلئوتیدی و اسیدآمینه‌ای نواحی حفاظت شده C1 تا C5 چنانچه انتظار می‌رفت نشان‌دهنده میزان بالای حفاظت‌شدگی این نواحی تقریباً در تمامی آلل‌های ٢٧ گانه شناسائی‌شده در گونه گلابی معمولی بود (جدول ٣ و جدول ٤). بالاترین میزان حفاظت‌شدگی نوکلئوتیدی در ناحیه حفاظت شده C1 و سپس C2 مشاهده شد و سایر نواحی مشتمل بر C3، RC4 و C5 از میزان حفاظت‌شدگی پائین‌تری در مقایسه با دو ناحیه قبل از اینترون یعنی C1 و C2 برخوردارند (جدول ٣). علاوه براین، بالاترین میزان حفاظت‌شدگی اسیدآمینه‌ای در ناحیه C2 و سپس C1 و سپس در سایر نواحی حفاظت شده مشتمل بر سه ناحیه C3، RC4 و C5 مشاهده شد (جدول ٤).

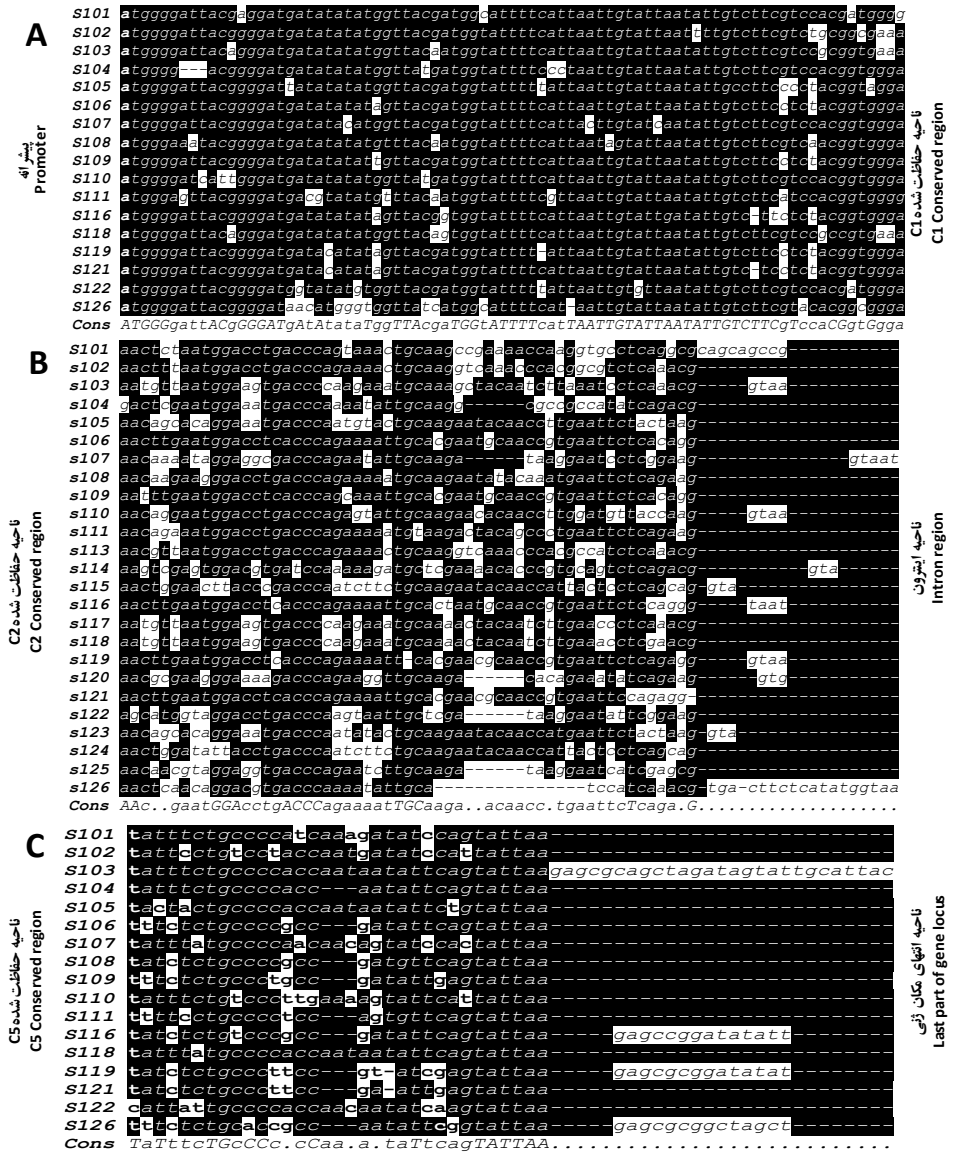
جدول ٤- مقایسه توالی پلی‌پپتیدی نواحی حفاظت‌شده C1 تا C5 در آلل‌های *S* شناسائی شده گلابی *Pyrus communis* L.

| آلل *S* | ناحیه C1 | ناحیه C2 | ناحیه C3 | ناحیه RC4 | ناحیه C5 |
|---|---|---|---|---|---|
| S101 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNKQWDKHGICGY | KQNVSQILS | IELVEVSLCS |
| S102 | DYLQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWQKQWDKHGICGS | KQNVSYILS | TELVEVSLCS |
| S103 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWRKQWRKHGACGY | KQNVSEILS | TELVEVGLCS |
| S104 | DYYQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWRKQWDKHGSCAS | KQNVSEILS | TELVEVGLCS |
| S105 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNKQWNKHGSCGR | KQNVSEILS | TELVEVTICS |
| S106 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNKQWIKHGSCGN | KQNVSEILS | TELVEISLCS |
| S107 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWSRQWKKHGACGY | KQNVSRILS | TELVEITLCS |
| S108 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWEREWIKHGICGY | KQNVSAILS | TELVEVTLCS |
| S109 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNNKQWIKHGSCGN | KQNVSGILS | TELVEISLCS |
| S110 | DYFQFTHQYQ | KLFTVHGLWPS | FWSKQWAKHGICGS | KQNVFEILS | TELVEVTLCS |
| S111 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWEKEWIKHGICGY | KQNVSAILS | TELVEVTLCS |
| S113 | DYLQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWQKQWDKHGICGS | KQNVSYILS | IELVEVSLCS |
| S114 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWETQWEKHGICGG | KQNVSKILS | TELVEVTLCS |
| S115 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNKQWNKHGGCGY | KQNVSKILS | IELVEVTLCN |
| S116 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNKQWIKHGSCGY | KQNVSEILS | TELVEVSLCS |
| S117 | ----FTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWRKQWRKHGACGY | KQNVSEILS | TELVEVGLCS |
| S118 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWRKQWRKHGICGY | KQNVSEILL | TELVEVGICS |
| S119 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNKQWIKHGSCGN | KQNVSGILS | TKLVEISLCS |
| S120 | ---------- | KLFTVHGLWPS | FWRKQWYKHGSCAS | KQNVSYILS | I--------- |
| S121 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWNKQWIKHGSCGN | KQNVSGILS | TKLVEISLCS |
| S122 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWDKEWMKHGICGY | KQNVSGILS | TELVEITLCS |
| S123 | ---------- | KLFTVHGLWPS | FWNKQWNKHGSCGH | RQNVSEILS | T--------- |
| S124 | ---------- | KLFTVHGLWPS | FWNKQWNKHGSCGY | KQNVSKILS | T--------- |
| S125 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWRRQWIKHGICGY | KQNVSKILS | TELVEVTLCS |
| S126 | DYFQFTQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWDRQWKKHGSCGR | KQNVSKILA | TELVEVTLCS |
| S127 | ---------- | KLFTVHGLWPS | FWRKQWEKHGSCAS | KQNVSEILS | T--------- |
| S128 | ---------- | KLFTVHGLWPS | FWNRQWIKHGICGY | KQNVSRILS | T--------- |
| Consensus | DYfQFtQQYQ | KLFTVHGLWPS | FWnkqWiKHGsCgy | RQNVSeILs | tELVEvtLCs |



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]




شکل ۱- نتایج هم‌ردیفی ناحیه ژنی بین پیشرانه و ناحیه حفاظت شده اول (C1) (A)؛ ناحیه ژنی بین ناحیه حفاظت شده دوم (C2) و اینترون (در بردارنده ناحیه دارای تنوع زیاد اول- HV1) (B) و ناحیه ژنی انتهائی بین ناحیه حفاظت شده پنجم (C5) و انتهای ژن (C) در آلل‌های مختلف خود ناسازگاری در گونه .Pyrus communis L.

با توجه به وجود بالاترین میزان حفاظت‌شدگی نوکلئوتیدی در ناحیه C1 و با توجه به اینکه این ناحیه قبل از ناحیه اینترون قرار گرفته است، در بررسی‌های متعدد نظیر تحقیق .Mota et al (2007) به‌عنوان بهترین ناحیه برای طراحی آغازگر(های) پیشرو برای تکثیر آلل‌های خودناسازگاری گلابی معمولی و دیگر گونه‌های نظیر سیب (*Malus domestica*) توسط (2002) .Zuccherelli et al مد نظر قرار گرفته است. این امر همچنین نشان‌دهنده این است که در سطح مکان ژنی، موتاسیون‌های نقطه‌ای و تغییر نوع نوکلئوتید در طی تکامل ارقام گلابی در این این لوکوس اتفاق افتاده، لیکن با توجه به اهمیت نواحی حفاظت شده در فعالیت S-RNase حاصل از ترجمه RNA حاصل از آن، موتاسیون‌هائی قدرت دوام و بقاء بیش‌تری داشته‌اند که کم‌تر منجر به تغییر کد اسیدآمینه‌ای شوند. از سوی دیگر توالی اسیدآمینه‌ای نواحی حفاظت‌شده C1 تا C5 به‌ترتیب به‌صورت DYFQFTQQYQ، KLFTVHGLWPS، FWNKQWIKHGSCGY، KQNVSEILS و TELVEVTLCS به‌عنوان محتمل‌ترین نواحی حفاظت‌شده این گونه است. نکته قابل توجه در این بررسی این است که بر اساس تحقیقات قبلی، وجود دو عدد اسید آمینه هیستیدین (Histidine) مشخص شده با علامت اختصاری H که اولین آن در ناحیه حفاظت شده C2 و دیگری در ناحیه حفاظت



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

شده C5 قرار دارد، برای فعالیت S-RNase پروتئین کد شده توسط این مکان ژنی ضروری است (Zhang and Xue 2008). Royo et al. (1994) گزارش کردند که در گونه گوجه‌فرنگی *Lycopersicon peruvianum*، از دست رفتن هیستدین‌های نواحی حفاظت شده، منجر به خودسازگاری خواهد شد. مقایسه نتایج این تحقیق مبنی بر هم‌ردیفی نواحی حفاظت‌شده C1 تا C5 در جدول ۲ با گزارش Royo et al. (1994) نشان می‌دهد که در گلابی وجود هیستیدین ناحیه حفاظت‌شده C5 برای فعالیت S-RNase در گونه گلابی ضروری نیست به‌صورتی که در هیچ یک از آلل‌های ۲۷ گانه، این اسید آمینه در ناحیه C5 مشاهده نشد (جدول ۳). در بررسی Ida et al.(2001) گزارش شده که بر خلاف نظر Royo et al. (1994)، دو هیستیدن موجود در دو ناحیه C2 و C3 برای فعالیت S-RNase ضروری است. مقایسه توالی اسیدآمینه‌ای نواحی حفاظت‌شده گونه گلابی معمولی در جدول ۳ نشان می‌دهد که این دو اسید آمینه هیستیدین بدون هیچ استثنائی در کلیه آلل‌های خودناسازگاری گلابی یکی در ناحیه C2 (اسید آمینه پنجم) و دیگری در ناحیه C3 (اسید آمینه دوم) به صورت کاملاً محافظت‌شده وجود دارند. این امر تایید کننده نظر Ida et al. (2001) در اهمیت دو هیستیدین این دو ناحیه بوده و اینکه به نظر می‌رسد در بین گونه‌های مختلف گیاهی تا حدی در مکان قرار گیری این هیستیدین‌ها تفاوت وجود دارد.

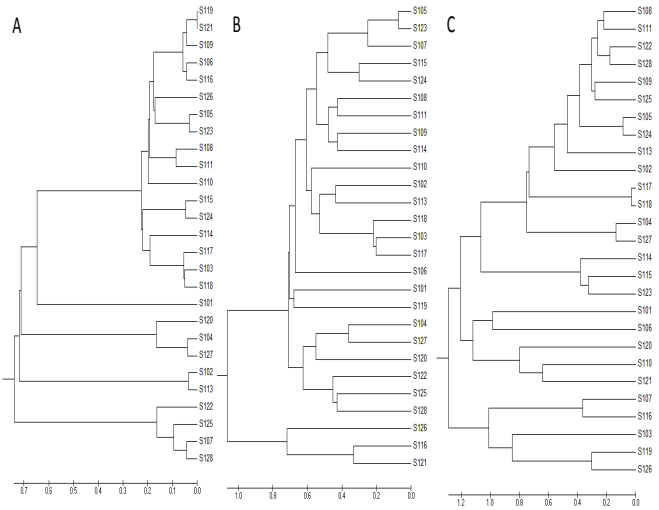
در مرور ساختار مولکولی آلل‌های خودناسازگاری گیاهان مختلف توسط Zhang and Xue (2008)، به غیر از پنج ناحیه حفاظت‌شده C1 تا C5، ناحیه بین پیشرانه تا C1 به‌عنوان ناحیه سیگنال و دو ناحیه دارای تنوع بسیار بالا، اولی بین C3 و اینترون، و دومی بین اینترون و RC4 گزارش شد. ارزیابی همردیفی این نواحی به تفکیک در آلل‌های مختلف گلابی گونه *P. communis* نشان داد که در ناحیه سیگنال، میزان قابل قبولی از حفاظت‌شدگی وجود دارد. این مسئله نشان می‌دهد که علاوه بر ناحیه C1 و ناحیه پیشرانه که در این بررسی برای طراحی آغازگرهای مناسب برای تکثیر این مکان‌ژنی قابل استفاده است، ناحیه سیگنال نیز به‌عنوان ناحیه‌ای مناسب برای طراحی آغازگرهای مناسب در گونه گلابی معمولی قابل استفاده می‌باشد (شکل ۱-A). هم‌چنین ارزیابی دقیق بخش‌های مختلف سیگنال، ناحیه بین C1 تا C2، C2 تا اینترون، طول اینترون، اینترون تا C3، C3 تا RC4، RC4 تا C5 و C5 تا انتهای ژن نشان می‌دهد که اطلاعات به‌امانت گذاشته‌شده در بانک اطلاعاتی در مواردی دارای اشکالاتی خصوصاً پرش از یک نوکلئوتید در مرحله توالی‌یابی بوده که خصوصاً در هم‌ردیفی ناحیه سیگنال روی دو آلل *S116* و *S121* در مکان نوکلئوتیدهای شماره ٦٦ به‌خوبی آشکار است (شکل ۱-C). بر خلاف این حفاظت‌شدگی بالا در ناحیه سیگنال، به‌دلیل وجود ناحیه تنوع بسیار بالا (HVR) در بین C2 و اینترون، این ناحیه خصوصاً در منطقه انتهائی از تنوع بسیار بالائی برخوردار بود (شکل ۱-B). علاوه بر این، منطقه بین ناحیه حفاظت شده C5 تا انتهای ژن نیز از حفاظت‌شدگی نسبتاً مطلوبی برای طراحی آغازگرهای عمومی برای تکثیر کل مکان ژنی و توالی‌یابی و تکمیل اطلاعات موجود در بانک‌های اطلاعاتی برخوردار است (شکل ۱-C). این بررسی با توجه به‌طول حداکثری ۲٤۲۲ نوکلئوتیدی آلل خودناسازگاری *S110*، از نظر تکثیر با PCR امکان‌پذیر و از نظر توالی‌یابی حداکثر با یک جفت آغازگر حدواسط به‌خوبی قابل اجرا خواهد بود. تجزیه خوشه‌ای رابطه فیلوژنی آلل‌های مختلف خودناسازگاری ۲۷ گانه گونه گلابی معمولی نشان داد که بر اساس توالی پلی‌پپتیدی، کلیه آلل‌ها به غیر از دو آلل *S119* و *S121* متفاوت و دو آلل فوق از این نظر کاملاً یکسان می‌باشند (شکل ۲-A)، هر دو آلل بر اساس جدول ۱، دارای یک اینترون نسبتاً کوتاه حدود ۱۵۰ نوکلئوتیدی بوده و چنانچه در آنالیز خوشه‌ای رابطه فیلوژنی آلل‌های فوق مشخص است، این دو آلل از نظر توالی پلی‌پپتیدی کاملاً یکسان، لیکن از نظر اینترون تاحدی متفاوت، به‌صورتی که از نظر توالی ناحیه حفاظت‌شده دوم (C2) تا انتهای ناحیه حفاظت‌شده چهارم (C4) (شکل ۲-B) و هم‌چنین بر اساس توالی اینترون مستقل (شکل ۲-C)، با آلل‌های دیگری خوشه‌بندی شدند. در بررسی Takasaki et al. (2006) به‌دلیل عدم گزارش و شناخت آلل *S121* تا آن زمان و گزارش بعدی این آلل توسط Sanzol, (2009b) (جدول ۱)، شباهت پلی‌پپتیدی این دو آلل مورد گزارش قرار نگرفت. هم‌چنین در بررسی اخیر (2014) Nikzad Gharehaghaji et al.، علی‌رغم بررسی توالی پلی‌پپتیدی آلل‌های مختلف خودناسازگاری گونه گلابی معمولی، با بیان دلیل روشن نبودن منشاء این آلل بر اساس نظر Goldway et (2008)



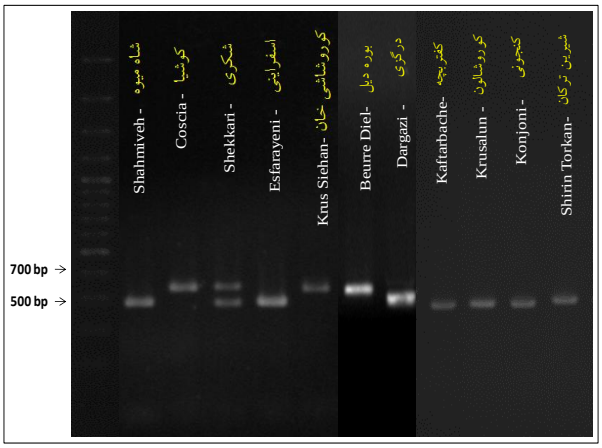
[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

al.، در بررسی وارد نشد. این در حالی است که تفکیک بخش‌های مختلف آلل‌های خودناسازگاری در گلابی نشان‌دهنده توالی متفاوت این دو آلل در ناحیه اینترونی بوده و از طرفی به‌دلیل طول بسیار نزدیک ناحیه اینترونی که اغلب روی ژل آگاروز مورد استفاده، قابل شناسائی نیست، امکان ایجاد تداخل بین این دو آلل را بسیار محتمل می‌سازد.




شکل ۲- آنالیز خوشه‌ای بر اساس روش UPGMA روی توالی پلی‌پپتیدی (A) و نوکلئوتیدی (B) روی ابتدای ناحیه حفاظت‌شده دوم (C2) تا انتهای ناحیه حفاظت‌شده چهارم (C4)، و هم‌چنین بر اساس توالی اینترون مستقل در آلل‌های مختلف خودناسازگاری در گونه *Pyrus communis* L.




شکل ۳- باندهای تکثیر شده متعلق به مکان ژنی خوناسازگاری در ارقام مختلف بومی و وارداتی گلابی متعلق به گونه *Pyrus communis* L. با استفاده از جفت آغازگر Sall-F و FB-R1.

با توجه به نتایج متفاوت گزارش شده در رابطه با برخی از آلل‌های خودناسازگاری ارقام مختلف گلابی و به‌ویژه در ارقام بومی، در این بررسی در ادامه آنالیز بیوانفورماتیک آلل‌های این مکان ژنی، به بررسی این آلل‌ها بر اساس روش تعیین توالی پرداخته شد. نتایج بیانگر تکثیر یک باند در ارقام درگزی، شیرین‌ترکان، شاه‌میوه، کفتربچه، کنجونی، اسفراینی و دو رقم اروپایی کوشیا، و بوره‌دیل و دو رقم آسیای مرکزی شامل کروس‌سیحان و کوروسالون بود و تنها در رقم شکری دو باند تکثیر شد (شکل ۳). طول تمامی باندهای تکثیری در واکنش جفت آغازگرهای استفاده شده در محدوده ۵۲۰ تا ۷۵۰ باز بود. بر اساس نتایج توالی‌یابی و هم‌ردیفی با اطلاعات امانت گذاشته شده در بانک اطلاعاتی، در رقم شاه‌میوه یک باند با وزن تقریبی ۵۲۰ جفت‌باز تکثیر شد، که بیانگر تشابه ۱۰۰ درصد و حضور یک آلل *S107* گونه گلابی معمولی در این رقم بود. این نتایج تایید کننده نتایج Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) مبنی بر وجود آلل *S107* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی در این رقم است. هم‌چنین با توجه به آلل جدید *S126* در این رقم، که توسط Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) گزارش شده، آغازگر پیشرو FB-R1 قادر به تکثیر آلل دیگر این رقم یعنی آلل *S126* به‌دلیل عدم تشابه کافی نبوده است. هم‌چنین در ارقام دارای منشاء آسیای مرکزی شامل دو رقم کروسالون و کروس‌سیحان، به‌ترتیب وزن تقریبی باند ۵۲۰ و ٦٥٠ باز بود، که در رقم آلل *S108* گلابی معمولی با شباهت کامل و در رقم دوم آلل *S117* همان گونه شناسائی شد. هم‌چنین در دو رقم اروپائی بوره‌دیل و کوشیا وزن تقریبی باند ٦٥٠ باز بود و تعیین توالی و هم‌ردیفی بیانگر یک آلل *S104* گونه گلابی معمولی در این ارقام بود. این نتیجه با گزارش قبلی Zisovich et al. (2004) در رابطه با وجود آلل *S104* در رقم کوشیا منطبق و نشان‌دهنده صحت انجام بررسی بوده و در رابطه با رقم بوره‌دیل، اولین گزارش از تعیین وجود آلل *S104* در این رقم است. هم‌چنین در ارقام کفتربچه و شیرین‌ترکان، باندی با وزن تقریبی ۵۲۰ باز تکثیر شد، که دارای ۹۹ درصد شباهت با توالی نوکلئوتیدی آلل *S1* گونه *P. betulifolia* و همین میزان شباهت با آلل *S35* گونه *P. ussuriensis* نشان‌دادند. این نتایج در وهله نخست اولین گزارش از وجود آلل خودناسازگاری گونه‌های شرقی، در این ارقام است که اولین رقم دارای منشاء اصفهان و رقم دوم از خراسان می‌باشد. از سوی دیگر، نتایج با گزارش



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

Babaei et al. (2012) مبنی بر وجود جریان ژنی گلابی‌های شرق آسیا در برخی ارقام بومی و قدیمی کشور در انطباق بوده و نشان می‌دهد که هیبریداسیون بین‌گونه‌ای، در شکل‌گیری ارقام گلابی ایران در گذشته‌ای نامعین نقش داشته است. بر این اساس که ارقام فوق از نظر ظاهری و گیاهشناختی متعلق به گونه گلابی معمولی یا گونه *P. communis* بوده و با شباهت‌های اندکی در رابطه با میوه، دارای حداقل یک آلل از گونه شرقی گونه *P. ussuriensis* می‌باشند. باند تکثیر شده در رقم اسفراینی با وزن ۵۷۰ باز، با تشابه بالای ۹۹ درصد به آلل *S119* گلابی معمولی شباهت داشت و باندهای دوگانه رقم شکری به ترتیب با وزن تقریبی ٦٦٠ و ٥٦٠ باز بودند که این دو آلل نیز به‌ترتیب با آلل *S19* گونه *P.* × *bretschneideri* و باند کوچک‌تر با آلل *S107* گلابی معمولی شباهت داشت. این نتایج نیز اولین گزارش از وجود آلل‌های فوق در دو رقم اسفراینی و شکری، هر دو با منشاء شمال شرق کشور بوده و تا قبل از این تحقیق، بررسی در رابطه با آلل‌ها این ارقام گزارش نشده بود.

در رابطه با رقم درگزی، تنها باند تکثیر شده با وزن ۵۵۰ باز دارای ۹۳ درصد شباهت با آلل *S119* در گلابی معمولی بود، لیکن در بررسی Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) آلل *S121* برای این رقم گزارش شد، که حاصل از تکثیر این آلل با دو آغازگر B52S21F2 for و B53S21R2 rev بوده است. بر اساس محل اتصال آغازگرهای اختصاصی و غیراختصاصی مورد استفاده در تحقیق فوق، بایستی یک باند ۱۷۲۲ و یک باند ٤٨٣ بازی تکثیر شود که وزن باندهای ۱۷۰۰ و ٦٥٠ بازی گزارش شد. لذا به‌نظر می‌رسد آغازگرهای گزارش شده توسط Sanzol (2009a) و باند مورد نظر بر اساس کددسترسی EU477839 با طول اینترون ۱۵۳ باز برای *S121* که در رقم پاسکراسان گزارش شده توسط آغازگرهای فوق، قابل تفکیک نبوده و در بررسی Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) برای آلل *S119*، به اشتباه آلل *S121* که دارای شباهت بسیار زیاد به آلل *S119* می‌باشد، گزارش شده است. بر اساس نتایج حاصله در ارزیابی بیوانفورماتیک و مقایسه نتایج Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) و Babaei et al. (2012) و نتایج این تحقیق، به‌نظر می‌رسد، ارزیابی بر اساس آغازگرهای اختصاصی به‌صورت کامل، حداقل در برخی از آلل‌های گلابی موثر نبوده و استفاده از روش تعیین توالی روش بسیار قابل اعتمادتری خواهد بود. آلل دیگر این رقم در بررسی Babaei et al. (2012) و Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) به‌ترتیب براساس استفاده از مارکر CAPS و آغازگرهای اختصاصی، آلل *S102* گزارش شده که بر اساس شواهد می‌توان ژنوتیپ *S102/S119* را برای رقم درگزی جمع‌بندی کرد.

در نهایت در رقم کنجونی با منشاء اصفهان، باندی با وزن بیش از ۵۰۰ باز تکثیر شد که دارای شباهت بالای ۹۹ درصد به *S35* گونه *P. ussuriensis* بود. Nikzad Gharehaghaji et al. (2014) احتمال تریپلوئید بودن این رقم را داده و در آن سه آلل گونه گلابی معمولی شامل *S108*، *S117* و *S120* گزارش کردند. هم‌چنین Babaei et al. (2012) با استفاده از روش CAPS، آلل *S42* گونه *P. ussuriensis* و آلل *S5* گونه *P. pyrifolia* را در این رقم گزارش کردند. با توجه به استفاده از آغازگرهای عمومی Sanzol,(2009a) و طول باند حاصله مشتمل بر ٦٨٠، ٨٠٠ و ١٦٠٠ باز، در بررسی Nikzad Gharehaghaji et al. (2014)، آغازگرهای فوق با توالی‌های شناسائی شده توسط Babaei et al. (2012) و توالی این تحقیق هم‌ردیف شد و مشخص شد که آلل *S35* گونه *P. ussuriensis* و آلل *S5* گونه *P. pyrifolia* هر دو با آغازگرهای فوق، قادر به تکثیر باندهائی به طول ٦٨٠ باز هستند. هم‌چنین آغازگرهای فوق قادر به تکثیر باند ٨٤٠ بازی روی آلل *S42* گونه *P. ussuriensis* می‌باشند. در بررسی Erfani et al. (2012) این رقم با گونه شرقی *P.* ×*bretschneideri* در یک خوشه طبقه‌بندی شد. از این نتایج اینچنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که روش آغازگرهای اختصاصی در مورد ارقام یا ژنوتیپ‌هائی که احتمال وجود جریان ژنی دیگر گونه‌ها در آن‌ها وجود دارد روش قابل اطمینانی برای تعیین نوع آلل خودناسازگاری نبوده و لازم است از روش تعیین توالی استفاده شود. هم‌چنین لازم است آلل‌های خودناسازگاری این رقم در بررسی کامل‌تری مورد ارزیابی نهائی قرار گیرد.

نتایج این تحقیق نشان داد که در حال حاضر تعداد ۲۱ آلل خودناسازگاری از تعداد ۲۷ آلل شناسائی شده گونه گلابی معمولی به‌طور کامل تعیین توالی و در دسترس است. لذا در برنامه‌های تحقیقاتی بعدی لازم است شش عدد آلل باقی‌مانده



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

بررسی نهائی شوند. بررسی بیوانفورماتیک بخش‌های مختلف و خصوصاً ناحیه پیشرانه که برای اولین بار در این تحقیق بررسی شد، نشان داد نواحی نسبتاً حفاظت شده‌ای برای طراحی آغازگرهای عمومی برای تکثیر کل طول آلل‌های خودناسازگاری، به جای استفاده از روش کلون‌کردن، برای توالی‌یابی کامل آلل‌ها هم در ناحیه پیشرانه، ناحیه سیگنال و هم در انتهای آلل وجود دارد. بر این اساس پیشنهاد می‌شود قابلیت تکثیر کامل آلل‌های گلابی در ادامه این برنامه و تحقیقات قبلی، با استفاده از آغازگرهای این نواحی مورد ارزیابی قرار گیرد. در ادامه بررسی‌های بیوانفورماتیک، بررسی جامع انجام گرفته روی آلل‌های ۲۷ گانه شناسائی شده در این گونه، علاوه بر اینکه به‌منظور استفاده در برنامه‌های تحقیقاتی بعدی کنارهم گردآوری شد، نشان داد که دو آلل *S119* و *S121* بر خلاف اینکه به‌دلیل شباهت نسبی، تنها آلل *S121* مد نظر بوده و آلل دیگر حذف شده است، لازم است به‌دلیل تفاوت در اینترون، مجدداً به‌عنوان آلل مستقل مد نظر قرار گیرد. از سوی دیگر نشان داده شد که از بین آلل‌های شناسائی شده، هیچ دو آللی به‌طور کامل شباهت نداشته و یکسان نیستند، و کنار گذاشتن آلل *S119* سبب بروز برخی اشتباهات در شناسائی آلل‌های این گونه در ارقام بومی ایران شده است. در نهایت در این تحقیق ضمن شناسائی، تکمیل و یا تایید آلل‌های خودناسازگاری ارقام مختلف، خصوصاً برخی ارقام بومی کشور، به بروز اشتباهات ناشی از استفاده از آغازگرهای اختصاصی بدون در نظر گرفتن، جریان ژنی دیگر گونه در ارقام اشاره و جمع‌بندی شد که استفاده از روش تعیین توالی به‌عنوان مطمئن‌ترین راه برای شناسائی آلل‌ها خصوصاً در موارد این‌چنینی مطرح است. لذا ضمن تایید جریان ژنی دیگر گونه‌های گلابی در ارقام کشور، لازم است برخی ارقام نظیر رقم کنجونی مورد بررسی تکمیلی و مجدد قرار گیرند. از طرفی انجام یک برنامه بیوانفورماتیک عمومی روی این مکان ژنی برای کل جنس *Pyrus* که تاکنون انجام نگرفته است، همانند بررسی انجام شده در این تحقیق ضروری به‌نظر می‌رسد.

## منابع

Babaei F, Abdollahi H, Hajmansoor S (2012) Identification of self-incompatibility alleles in some Iranian native pear cultivar. Seed and Plant Improvement Journal 28-1:201-214. (In Farsi).

Broothaerts W, Janssens GA, Proost P, Broekaert F (1995) cDNA cloning and molecular analysis of two self-incompatibility alleles from apple. Plant Molecular Biology 27:499-511.

Corpet F (1988) Multiple sequence alignment with hierarchical clustering Nucleic Acids Research 16:10881-10890.

de Nettancourt D (1977) Incompatibility in angiosperms. In: Frankel R, Gall GAE, Linskens HF (Eds.) Monographs in theoretical and applied genetics. Springer, Berlin Heidelberg, New York, USA. 1-27.

Erfani J, Ebadi A, Abdollahi H, Fatahi MR (2012) Genetic diversity of some pear cultivars and genotypes using simple sequence repeat (SSR) markers. Plant Molecular Biology Reporter 30:1065-1072.

Goldway M, Takasaki T, Sanzol J, Mota M, Zisovich A, Stern R, Sansavini S (2009) Renumbering the *S*-RNase alleles of European pears (*Pyrus communis* L.). Scientia Horticulturae 119:417-422.

Heldt HW (2005) Plant Biochemistry. Elsevier Academic Press, Burlington, USA. 622p.

Ida K, Norioka S, Yamamoto M, Kumasaka T, Yamashita E, Newbigin E, Clarke AE, Sakiyama F, Sato M (2001) The 1.55 Å resolution structure of *Nicotiana alata SF11*-RNase associated with gametophytic self-incompatibility. Journal of Molecular Biology 314:103-112.

Morgan J (2015) The book of pears. Ebury Press, The Royal Horticultural Society of UK. 304p.

Moriya Y, Takai Y, Okada K, Ito D, Shiozaki Y, Nakanishi T, Takasaki T (2005) Parthenocarpy and self- and cross-incompatibility in ten European pear cultivars. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 74:424-430.

Moriya Y, Yamamoto K, Okada K, Iwanami H, Bessho H, Nakanishi T, Takasaki T (2007) Development of a CAPS marker system for genotyping European pear cultivars harboring 17 *S* alleles. Plant Cell Reports 26:345-354.

Mota M, Tavares L, Oliveira CM (2007) Identification of *S*-alleles in pear (*Pyrus communis* L.) cv. 'Rocha' and other European cultivars. Scientia Horticulturae 113:13-19.

Nikzad Gharehaghaji A, Arzani K, Abdollahi H, Shojaeian A, Dondini L, De Franceschi P (2014) Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases in the Central Asian pear germplasm and introgression of new alleles from other species of the genus *Pyrus*. Tree Genetics and Genomics 10:411-428.

Royo J, Kunz C, Kowyama Y, Anderson MA, Clarke AE, Newbigin E (1994) Loss of a histidine residue at the active site of *S*-locus ribonuclease is associated with self-



[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]

compatibility in *Lycopersicon peruvianum*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 91:6511-6514.

Sanzol J (2009a) Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases (*S*-RNases) in European pear cultivars and development of PCR detection for 20 alleles. Tree Genetics and Genomics 5:393-405.

Sanzol J (2009b) Pistil-function breakdown in a new *S*-allele of European pear, *S21*, confers self-compatibility. Plant Cell Reports 28:457-467.

Sanzol J, Herrero M (2002) Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). Euphytica 128:325-331.

Sanzol J, Robbins TP (2008) Combined analysis of *S*-alleles in European pear by pollinations and PCR based S-genotyping: correlation between *S* phenotypes and *S*-RNase genotype. Journal of the American Society for Horticultural Science 133:213-224.

Takasaki T, Moriya Y, Okada K, Yamamoto K, Iwanami H, Bessho H, Nakanishi T (2006) cDNA cloning of nine *S* alleles and establishment of a PCR-RFLP system for genotyping European pear cultivars. Theoretical and Applied Genetics 112:1543-1552.

Tomimoto Y, Nakazaki T, Ikehashi H, Ueno H, Hayashi R (1996) Analysis of self-incompatibility-related ribonucleases (*S*-RNases) in two species of pears, *Pyrus communis* and *Pyrus ussuriensis.* Scientia Horticulturae 66:159-167.

Zhang Y, Xue Y (2008) Molecular biology of *S*-RNase-based self-incompatibility. In: Franklin-Tong, VE (Ed.) Self-compatibility in flowering plants: evolution, diversity, and mechanisms. Springer-Verlag, Germany. 193-216.

Zisovich AH, Stern RA, Shafir S, Goldway M (2004) Identification of seven *S*-alleles from the European pear (*Pyrus communis*) and the determination of compatibility among cultivars. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 79:101-106.

Zuccherelli S, Tassinari P, Broothaerts W, Tartarini S, Dondini L, Sansavini S, (2002) *S*-allele characterization in self-incompatible pear (*Pyrus communis* L). Sexual Plant Reproduction 15:153-158.

[ Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-10-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.20084439.1398.14.3.5.3 ]