ژنتیک نوین
دوره سوم ، شماره۲ ، تابستان ۱۳۸۷
صفحه ۲۰-۱۳

گزارش فعالیت احتمالی ترانسپوزون‌ها هنگام کالوس‌زایی در سیب‌زمینی تریپلویید

مسیح فروتن[۱]*، اندرو وتن[۲]، مایکل ویلکینسون[۲]
گروه علوم زیستی، دانشگاه ردینگ، انگلستان
*نویسنده مسئول مکاتبات ، پست الکترونیک : forootan@rifr-ac.ir

چکیده

هدف اولیهٔ این تحقیق، امکان‌سنجی القای ناپایداری کروموزومی در کشت کالوس سیب‌زمینی بوده است. کالوس حاصل از برگ در محیط‌هایی با دماهای مختلف رشد کردند و وجود یا عدم وجود ریزماهواره‌های اختصاصی گروه‌های ژنومی در گیاهچه‌های حاصل از کشت کالوس بررسی شد. مشاهده شد که در سه گیاهچهٔ باززایی شده از کالوس، قطعات DNA حاصل از SSR-PCR بزرگتر از حد مورد انتظار برای ریزماهواره‌هاست. در بررسی مجدد این نمونه‌ها، از یکی از آغازگرهای رفت یا برگشت ریزماهواره همراه با آغازگرهای رتروترانسپوزون *Tst1* استفاده شد و در دو مورد، قطعه‌ای در حدود ۱۰۰bp یا بزرگتر بین دوآغازگر یافت شد. به نظر می‌رسد این پدیده به دلیل قرار گرفتن یک توالی ترانسپوزون در بین دو آغازگر رفت و برگشت ریزماهواره روی داده باشد. عوامل مؤثر بر این پدیده و منابع احتمالی خطاهای آزمایشی مورد بحث قرار گرفت.

واژه های کلیدی
ریزماهواره،
رِتروترانسپوزون،
REMAP،
سیب‌زمینی

مقدمه

ترانسپوزون‌ها (توالی‌هایی از DNA که می‌توانند به مکان‌های دیگر ژنوم منتقل شوند) در گونه‌های گیاهی برای اولین بار در دههٔ ۱۹۴۰ میلادی مشاهده شدند (۱). این گروه توالی‌ها بسته به مکانیسمی که از آن برای تکثیر و انتقال خود استفاده می‌کنند، و نیز ساختار ژنتیکی‌شان، در دو اَبَرخانواده جای می‌گیرند که هر دو نوع آن نیز در گونه‌های گیاهی مشاهده شده است: آنها که هنگام جابجایی در مکان اولیه باقی نمی‌مانند (DNA مستقیماً جابجا می‌شود)، و آنها که نسخه‌هایی از خود را (از طریق mRNA) در ژنوم تکثیر می‌کنند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]

نوع دوم (که رِتروترانسپوزون retrotransposon خوانده می‌شود) خود به ۹ گروه تقسیم می‌شود (۲)، که از مهم‌ترین آنها می‌توان گروه LTR (long-terminal repeat: «تکرار انتهایی طولانی») را نام برد. دلیل این نامگذاری، دارا بودن یک توالی طولانی تقریباً مشابه در دو انتهای این نوع رتروترانسپوزون است. رتروترانسپوزون‌های LTR به نوبهٔ خود از نظر شباهت توالی ژنتیکی به دو دسته تقسیم می‌شوند که با اسامی *Ty1*-copia و *Ty3*-gypsy مشخص شده‌اند. در گونه‌های گیاهی، بیشتر رتروترانسپوزون‌های *Ty1*-copia مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و تعداد زیادی از آنها در گونه‌هایی نظیر توتون، سیب‌زمینی و نخود شناسایی شده است (۳، ۴) و توالی برخی نیز به طور کامل تعیین شده است (۵). از آنجا که انتقال *Ty1*-copia از طریق mRNA انجام می‌شود، نسخه‌های اولیه در ژنوم باقی مانده، و به مرور زمان (نسل به نسل) ژنوم حاوی تعداد زیادی از نسخه‌های یک رتروترانسپوزون خواهد شد، که گاهی تا نیمی از کل ژنوم گیاه را هم شامل می‌شود (۶). با توجه به پایدار بودن سازوکار نسخه‌برداری رتروترانسپوزون‌ها، بررسی آنها می‌تواند اطلاعات ژنتیکی ارزشمندی دربارهٔ سیر تکاملی ژنوم مورد مطالعه به دست دهد (۷، ۸، ۹). در همین راستا، Kalendar و همکاران (۱۰) روش‌هایی موسوم به IRAP (Inter Retrotransposon Amplification Polymorphism: «چندشکلی قطعات تکثیر شدهٔ بین رتروترانسپوزون‌ها») و REMAP (REtrotransposon Microsatellite Amplification Polymorphism: «چندشکلی قطعات تکثیر شده بین رتروترانسپوزون و ریزماهواره») را پیشنهاد کرده‌اند که بر آن اساس انگشت نگاری ژنتیکی بر مبنای بررسی چندشکلی ناشی از فعالیت ترانسپوزون‌های LTR و به کمک توالی‌های ژنتیکی موجود در دو انتهای مشابه‌شان انجام می‌گیرد.

در برنامه‌های به‌نژادی سیب‌زمینی، دورگ‌گیری گونه‌های زراعی با خویشاوندان وحشی‌شان باعث ورود ناخواستهٔ ژن‌های وحشی به ریختهٔ ارثی گونهٔ زراعی شده و انجام تلاقی‌های برگشتی را اجتناب ناپذیر می‌کند. تلاقی‌های برگشتی به نوبهٔ خود تفرق ژنی را افزایش داده و این امر منجر به دشوار شدن گزینش می‌شود. یک راه حل جایگزین برای حذف صفات ناخواسته، بهره‌گیری از ناپایداری کروموزوم‌ها در محیط کشت درون‌شیشه‌ای است. یک روش ساده برای القای ناپایداری کروموزومی، تغییر رژیم دمایی محیط است، چرا که باعث تغییر در سرعت تقسیم سلولی بافت کالوس شده و در نتیجه حرکت طبیعی کروموزوم‌ها به قطب‌های سلول مختل می‌شود (۱۱، ۱۲). هدف اولیهٔ تحقیق حاضر، بررسی کارآمدی ایجاد ناپایداری کروموزومی در دورگ‌های F_1 در محیط کشت بوده است.

مواد و روش‌ها

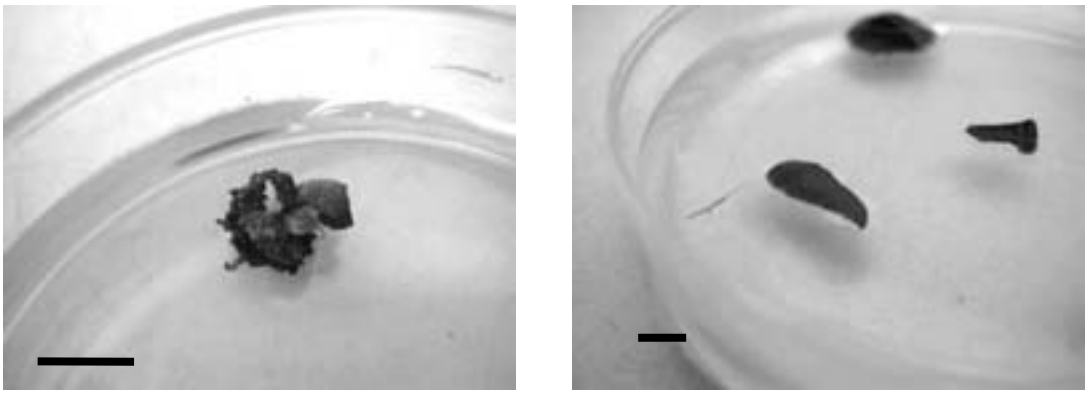
۱) کشت بافت:

مادهٔ گیاهی آزمایشی، گیاه تریپلویید (۲n=۳x=۳۶) حاصل از تلاقی *Solanum phureja* ♂(۲n=۲x=۲۴) و *Solanum acaule* ♀ (۲n=۴x=۴۸) بود. جوانه ها پس از ۳-۵mm رشد از غده جدا شده و در محلول ۰/۰۱٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه تحت فشار ۲۰mbar- ضدعفونی شدند. سپس با آب مقطر استریل شستشو داده شده و در محیط کشت MS (۱۳) و در دمای ۲۴°C، روشنایی ۱۶ ساعت در روز با شدت نور ۲۸$\mu molm^{-2}s^{-1}$ کشت شدند. برای ریزازدیادی گیاهچه‌ها نیز از محیط کشت و شرایط محیطی مشابه استفاده شد.

برای باززایی کالوس از روش پیشنهادی Karp و همکاران (۱۴) استفاده شد. برگها پس از جدا شدن از گیاه به مدت سه هفته در محیط کشت MS+NAA 0.1mg/l جامد کشت شدند (شکل ۱). برای القای ناپایداری در مرحلهٔ کالوس، کشت‌ها در سه محیط با دماهای کنترل شدهٔ ۲۲°C، ۲۴°C، و ۲۶°C نگهداری شدند. سه هفته پس از تولید کالوس به MS+GA_3 5mg/l منتقل شدند و پس از ۵ هفتهٔ دیگر برای ریشه‌زایی به MS بدون هورمون منتقل شدند. چهار هفته پس از ظهور ساقه‌ها، گیاهچه‌ها از کالوس جدا و در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]



شکل ۱) برگ سیب‌زمینی تریپلوئید، کشت شده در محیط کشت کالوس‌زایی (راست) و کالوس و جوانه‌های ایجاد شده بر روی آن (چپ). طول خط شاخص تقریباً 5mm است.

۲) واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز:

استخراج DNA بر اساس روش Tai & Tanksley (۱۵) انجام گرفت. برای تنظیمات چرخهٔ حرارتی SSR-PCR از روش Provan (۱۶) استفاده شد. انتخاب ریزماهواره‌ها به گونه‌ای انجام شد که علاوه بر اختصاصی بودن برای هر مکان ژنومی، محصول تولید شده از هر کروموزوم همولوگ حتی‌الامکان اندازهٔ متفاوتی داشته باشد تا هر همولوگ جداگانه قابل ردیابی باشد. آغازگرهای استفاده شده عبارت بودند از: STM2020، STM1064، LernalX، STM1100، STM0028، STM1021، STM1106 و STM2005 (به ترتیب متعلق به گروه‌های ژنومی I، II، V، VI، VII، IX، X و XI، منبع شمارهٔ ۱۷). از DNA استخراج شده از ماده گیاهی اولیه (قبل از تشکیل کالوس) در هر سری واکنشPCR به عنوان شاهد استفاده شد.

برای بررسی فعالیت رتروترانسپوزون‌ها، از دو روش IRAP و REMAP استفاده شد. برای روش IRAP دو آغازگر Tst1A و Tst1B (جدول ۱) به طور جداگانه مورد استفاده قرار گرفت. چرخهٔ حرارتی IRAP نیز بر اساس روش Lightbourn و همکاران (۱۸) طراحی شد. اجرای روش REMAP با روشی مشابه IRAP انجام شد با این تفاوت که یکی از آغازگرهای رفت یا برگشت نشانگرهای ریزماهواره با همان غلظت آغازگر IRAP به مخلوط واکنش PCR افزوده شد.

آزمون‌های زیر بر روی نمونه‌های مورد مطالعه برای فعالیت احتمالی رتروترانسپوزون، انجام پذیرفت:

الف) PCR با یکی از دو آغازگر Tst1A یا Tst1B و یکی از آغازگرهای STM1064F، STM1064R، LernalXF، LernalXR، STM2005F، و STM2005R. (جدول ۱، در مجموع ۱۲ واکنش REMAP برای هر نمونه)

ب) PCR با آغازگرهای رفت و برگشت ریزماهواره (شاهد SSR-PCR).

ج) PCR با آغازگرهای رتروترانسپوزون (شاهد IRAP).

الکتروفورز به دو روش ژل آگارز (۱/۵٪ آگارز، همراه با شاخص Invitrogen 100bp ladder برای برآورد اندازهٔ باندها) و کاپیلاری (با دستگاه ABI Prism 3100 Genetic Analyzer) انجام گرفت. از باندهای ایجاد شده بر روی ژل آگارز عکس دیجیتال تهیه شد، و نتایج الکتروفورز کاپیلاری با نرم‌افزار ABI Prism Genotyper مورد بررسی قرار گرفت.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]

جدول ۱) آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق حاضر

نام	توالی ('3 -'5)	منبع
Tst1A	CTAAATCTGCCTACTCATTCAA	۱۸
Tst1B	GACCAAATAAACTAATCAATCCC	–
STM1064F	GTTCTTTTGGTGGTTTTCCT	۱۷
STM1064R	TTATTTCTCTGTTGTTGCTG	۱۷
LernalXF	CTCACCCACAAAGAAAATTC	۱۷
LernalXR	CTAACAAACATTGTACAACAATAATC	۱۷
STM2005F	TTTAAGTTCTCAGTTCTGCAGGG	۱۷
STM2005R	GTCATAACCTTTACCATTGCTGG	۱۷

نتایج

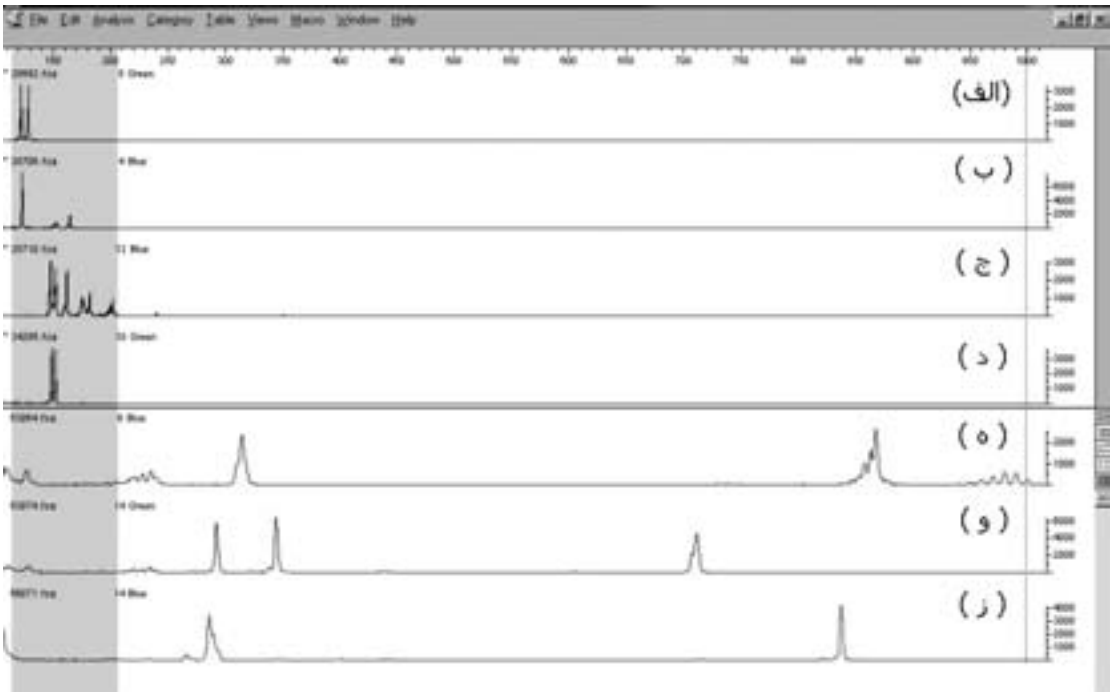
در بررسی‌های انجام شده بر روی ۱۹۸ گیاهچهٔ باززایی شده در جمعیت اولیه، تعداد ۴۰۱۰ نشانگر ریزماهواره بررسی شدند. از این تعداد، ۷۰۴ نشانگر در مکان‌های مورد انتظار (در محدودهٔ ۱۰۰bp تا ۲۰۰bp) مشاهده نشدند، و ۱۱۲ گیاهچه از جمعیت مطالعه شده حداقل یکی از نشانگرهای خود را از دست داده بودند.

شمارش کروموزوم‌ها در سه عدد از گیاهچه‌های باززایی شده (نمونه‌های 090D، 186A و 191C) نشان داد که علیرغم از دست دادن نشانگرهای ریزماهواره، هیچ یک از کروموزوم‌های خود را از دست نداده‌اند. همچنین نتایج حاصل از الکتروفورز کاپیلاری نشان داد در واکنش‌های PCR در سه نمونه (100D،099D و 191C، به ترتیب متعلق به تیمارهای دمایی ۲۲°C، ۲۲°C و ۲۴°C) که نشانگرهای مربوط به ریزماهواره‌ها در آنها دیده نشده‌اند، قطعاتی بسیار بزرگتر از حد مورد انتظار تولید شده است (شکل ۲). این نمونه‌ها در واکنش REMAP مورد آزمون قرار گرفتند، به این ترتیب که یکی از آغازگرهای رفت یا برگشت SSR-PCR حذف و یکی از آغازگرهای Tst1A یا Tst1B به جای آن استفاده شد.

در مجموع، از واکنش‌های REMAP انجام شده، تنها ترکیب آغازگرهای رفت/برگشت ریزماهوارهٔ STM1064 با آغازگر Tst1A منجر به تشکیل باند شد که در دو مورد باند به دست آمده ۱۰۰bp یا بزرگتر بود: الف) باند مربوط به نمونهٔ 191C با آغازگر برگشت ریزماهوارهٔ STM1064 و آغازگر Tst1A (شکل ۳، چاهک ۷). ب) باند مربوط به نمونهٔ 100D با آغازگر رفت ریزماهوارهٔ STM1064 و آغازگر Tst1A (شکل ۳، چاهک ۱۱). به دلیل کوچک بودن اندازه محصول‌های PCR و کم بودن نمونهٔ گیاهی، خالص‌سازی و تعیین توالی محصولات به دست آمده از واکنش REMAP ممکن نشد. بر خلاف آغازگر Tst1A که در واکنش‌های REMAP با STM1064 یک یا حداکثر دو باند ایجاد کرد، آغازگر Tst1B در بیشتر نمونه‌ها باندهای زیادی ایجاد نمود. در نمونهٔ 100D، آغازگر Tst1B در ترکیب با آغازگر برگشت STM1064 (شکل ۳، چاهک شمارهٔ ۴) و در نمونهٔ 191C همین آغازگر با آغازگرهای رفت و برگشت STM1064 (شکل ۳، به ترتیب چاهک‌های شمارهٔ ۶ و ۱۲) تعداد زیادی باند ایجاد کرد که اندازهٔ تقریبی آنها از ۲۰۰bp تا بیش از ۱۰۰۰bp متغیر بود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]



شکل ۲) نمایش محصولات حاصل از SSR-PCR برای نمونه‌های باززایی شده از کالوس سیب‌زمینی، به وسیلهٔ نرم‌افزار الکتروفورز کاپیلاری. نمونه‌های (الف) تا (د) متعلق به گیاه شاهد (پیش از کالوس‌زایی) و به ترتیب مربوط به ریزماهواره‌های LernalX، STM1069، STM1021، و STM2005 می‌باشند. (ه): نمونهٔ 100D همراه با آغازگر ریزماهوارهٔ STM1064. (و): نمونهٔ 090D همراه با آغازگر ریزماهوارهٔ LernalX. (ز): نمونهٔ 191C همراه با آغازگر ریزماهوارهٔ STM1064. منطقهٔ خاکستری محدودهٔ مورد انتظار برای مشاهدهٔ نتایج SSR-PCR مورد استفاده در تحقیق حاضر و اعداد محور افقی معرف اندازه محصول PCR برحسب جفت باز (bp) می‌باشند.

بحث

از آنجا که هدف اولیهٔ تحقیق حاضر، بررسی پایداری کروموزوم‌ها به کمک نشانگرهای ریزماهواره بوده، انتخاب ریزماهواره‌های اختصاصی هر گروه ژنومی به منظور ردیابی کروموزوم‌ها صورت گرفته بود. فراوانی بسیار بالای ناپدید شدن نشانگرها این فرض را تقویت کرد که ناپدید شدن نشانگرها ممکن است به دلایلی غیر از ناپایداری ژنومی نیز روی دهد. بر این اساس و با مشاهدهٔ اندازهٔ غیر طبیعی برخی محصولات SSR-PCR که دال بر افزایش فاصلهٔ فیزیکی بین آغازگرهای رفت و برگشت بود، فرض تغییرات ساختمانی در خود نشانگر ریزماهواره به عنوان یک دلیل احتمالی مطرح و فعالیت رتروترانسپوزون‌ها نیز در همین راستا بررسی شد.

مشاهدهٔ باندهایی که با استفاده از یک آغازگر ریزماهواره و یک آغازگر رتروترانسپوزون در دو انتهای DNA حاصل شده، فرض قرار گرفتن یک نسخه از رتروترانسپوزون در نزدیکی ریزماهواره را تقویت می‌کند. نکته‌ای که در تحقیق حاضر جلب توجه می‌کند، توجه به اندازهٔ دو باند حاصل از PCR مربوط به نمونهٔ 191C است که آغازگر رتروترانسپوزون Tst1A و یکی از دو آغازگر– رفت یا برگشت– ریزماهوارهٔ STM1064 در آنها استفاده شده. این دو باند برای آغازگرهای STM1064F و STM1064R ، به ترتیب اندازه‌ای معادل ۱۰۰bp< و ۱۵۰bp دارند (شکل ۳، چاهک‌های ۷

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]

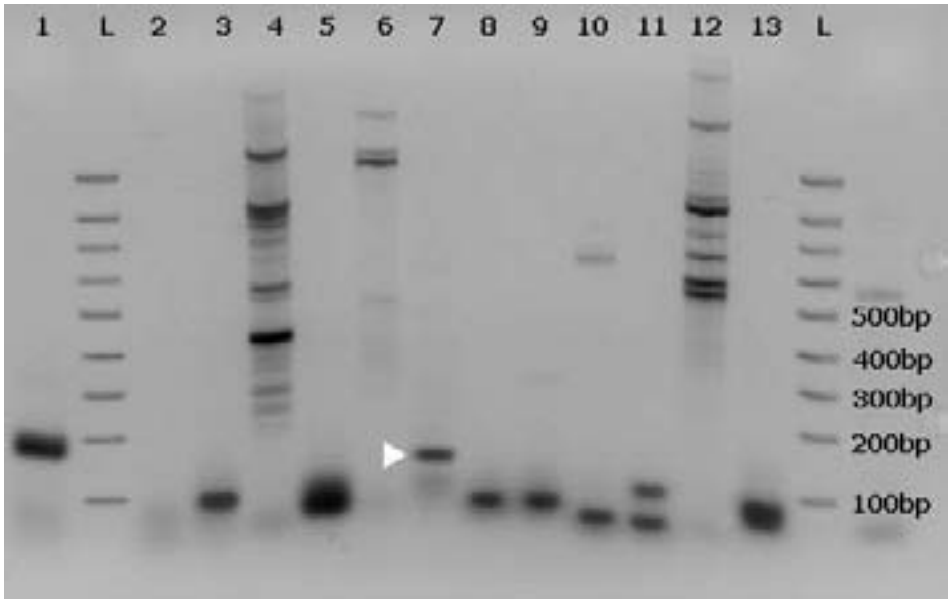
و ۱۳). از آنجا که قطعهٔ بین دو آغازگر رفت و برگشت STM1064 طولی نزدیک به ۲۰۰bp -تقریباً معادل مجموع دو قطعهٔ فوق‌الذکر- دارد (شکل ۳، چاهک ۱)، ممکن است قرار گرفتن یک قطعه DNA خارجی در بین دو آغازگر باعث افزایش فاصلهٔ بین آن دو شده باشد.

در عین حال، شایان ذکر است که در تفسیر نتایج حاصل از این آزمایش باید چند نکته مدنظر قرار گیرد: اول آنکه با توجه به اینکه در تحقیق حاضر، هدف اولیه بررسی موضوع دیگری (ناپایداری کروموزومی) بوده و نتایج ارائه شده در این نوشته نتایج جنبی این تحقیق به شمار می‌رود، لازم است مطالعات آتی با هدف بررسی این پدیده انجام شده و یافته‌های این تحقیق با آزمایش‌های تکراردار و نمونه‌های بزرگ‌تر تأیید شود. دوم آنکه قطعات بسیار کوچک DNA بر روی ژل آگارز می‌توانند به دلایل دیگری (از جمله تجمع آغازگرها در انتهای ژل) نیز ایجاد شده باشند. این امر به طور خاص در مورد باندهایی که اندازه‌های بسیار کوچک (کمتر از ۱۰۰bp) محتمل است (شکل ۳، چاهک‌های ۳، ۸، ۹، ۱۰)، هرچند در مورد برخی باندهای مشاهده شده در تحقیق حاضر (مثلاً شکل ۳، چاهک ۷ و ۱۱) صدق نمی‌کند. برای اطمینان از اینکه این باندها محصول واکنش REMAP هستند، تعیین توالی آنها و مقایسه با توالی آغازگرهای ریزماهواره ضروری است. بر این اساس، آغازگر Tst1B توسط نگارندگان تحقیق حاضر و با توجه به موقعیت توالی مکمل آن در رتروترانسپوزون *Tst1* (۵) طوری انتخاب شد که قطعهٔ حاصل از PCR حدود ۱۵۰bp بزرگ‌تر باشد. اما بررسی نتایج PCR های انجام شده با این آغازگر نشان می‌دهد که این آغازگر نسبت به Tst1A برای واکنش‌های REMAP مزیت نسبی ندارد. باندهای حاصل از PCRهای انجام شده با Tst1B (شکل ۳، چاهک ۶ و ۱۲) به احتمال زیاد نتیجهٔ واکنش‌هایی از نوع IRAP است، بدین معنی که آغازگر Tst1B در رقابت با آغازگرهای ریزماهواره غلبه یافته و آغازگرهای ریزماهواره عملاً در PCR فعال نبوده‌اند. در عین حال، رقابت پذیری این آغازگر در مقابل آغازگرهای ریزماهواره، می‌تواند حاکی از مناسب بودن آن برای مطالعات انگشت‌نگاری ژنتیکی به روش IRAP باشد.

نتایج مطالعهٔ حاضر، در صورت تأیید درستی آن، با پاره‌ای از تحقیقات مشابه همخوانی دارد. Pearce و Kumar (۱۹) فعال شدن ترانسپوزون‌های سیب‌زمینی را در طی فرایند خالص‌سازی پروتوپلاست گزارش کرده‌اند. گزارش مشابهی نیز از فعال شدن ترانسپوزون *Tnt1* در توتون حین فرایند خالص‌سازی پروتوپلاست منتشر شده است (۲۰). این فعالیت به وجود برخی تنش‌های ناشی از شرایط رشد درون‌شیشه‌ای نسبت داده شده که به نظر می‌رسد به دلیل مواد آنزیمی به کار رفته در فرایند خالص‌سازی پروتوپلاست روی داده است. از آنجا که این دسته آنزیم‌ها در طبیعت توسط قارچ‌های بیماری‌زا نیز تولید می‌شود، نمونه‌های طبیعی بروز این تنش‌ها می‌تواند هنگام حملهٔ عامل بیماری‌های قارچی نیز روی دهد، و لذا استفاده از نشانگرهای مربوط به فعالیت رتروترانسپوزون‌ها می‌تواند اطلاعات روشن‌تری دربارهٔ تاریخچهٔ طغیان این نوع بیماری‌ها به دست دهد. در مطالعه‌ای شبیه‌تر به تحقیق حاضر، Hirochika و Sugimoto (۲۱) فعالیت رتروترانسپوزون‌ها را طی فرایند کشت درون‌شیشه‌ای در برنج ثبت کردند. طبق نتایج آن تحقیق، افزایش طول دورهٔ نگهداری نمونه‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای (افزایش تعداد واکشت‌ها) موجب افزایش تعداد نسخه‌های رتروترانسپوزون شد. بسیاری از پژوهش‌های انجام شده بر روی سیب‌زمینی حکایت از پایداری ژنتیکی بالای آن دارد (برای مثال ۲۲، ۲۳، ۲۴) و این امر می‌تواند توضیحی برای فعالیت کمتر رتروترانسپوزون در سیب‌زمینی نسبت به شرایط تقریباً مشابه در برنج باشد، هرچند برای مقایسهٔ معتبرتر، بررسی دو گونه در شرایط کاملاً یکسان ضروری است. از آنجا که در تحقیق حاضر نمونه‌های گیاهی قبل از تولید کالوس حدود شش ماه به طور متوسط هر چهار هفته یک‌بار واکشت می‌شده‌اند، این امکان نیز وجود دارد که ترانسپوزون طی مراحل واکشت- و نه هنگام کالوس‌زایی- فعال شده باشد. اگرچه بر اساس آنچه در بالا گفته شد پایداری ژنتیکی سیب‌زمینی این احتمال را ضعیف‌تر می‌کند، اما به هر حال برای تشخیص مطمئن‌تر زمان فعال شدن رتروترانسپوزون، بررسی وجود نسخه‌های رتروترانسپوزون در RNA گیاهی ضروری است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]



شکل ۳) باندهای حاصل از واکنش REMAP برای نمونه‌های باززایی شده از کالوس سیب‌زمینی.

L: شاخص برای تعیین طول قطعات (Invitrogen 100bp ladder)

1: نمونهٔ شاهد (پیش از کالوس‌زایی) به همراه آغازگرهای STM1064F و STM1064R (شاهد SSR-PCR).

2: نمونهٔ 099D به همراه آغازگرهای Tst1B + STM1064R

3: نمونهٔ 099D به همراه آغازگرهای Tst1A + STM1064R

4: نمونهٔ 100D به همراه آغازگرهای Tst1B + STM1064R

5: نمونهٔ 100D به همراه آغازگرهای Tst1A + STM1064R

6: نمونهٔ 191C به همراه آغازگرهای Tst1B + STM1064R

7: نمونهٔ 191C به همراه آغازگرهای Tst1A + STM1064R

8: نمونهٔ 099D به همراه آغازگرهای Tst1B + STM1064F

9: نمونهٔ 099D به همراه آغازگرهای Tst1A + STM1064F

10: نمونهٔ 100D به همراه آغازگرهای Tst1B + STM1064F

11: نمونهٔ 100D به همراه آغازگر رفت Tst1A + STM1064F

12: نمونهٔ 191C به همراه آغازگرهای Tst1B + STM1064F

13: نمونهٔ 191C به همراه آغازگرهای Tst1A + STM1064F

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]

منابع

1- Fedoroff, N V (1989). About maize transposable elements and development. *Cell* **56**(2): 181-191

2- Bushman, F (2002). Genes floating on a sea of retrotransposons. In: *Lateral DNA Transfer: Mechanisms and Consequences* (F Bushman) New York, Cold Spring Harbor

3- Grandbastien, M A, Spielmann, A and Caboche, M (1989). *Tnt1*, a mobile retroviral-like transposable element of tobacco isolated by plant-cell genetics. *Nature* **337**(6205): 376-380

4- Flavell, A J, Smith, D B and Kumar, A (1992). Extreme heterogeneity of *Ty1*-copia group retrotransposons in plants. *Molecular and General Genetics* **231**(2): 233-242

5- Camirand, A and Brisson, N (1990). The complete nucleotide sequence of the *Tst1* retrotransposon of potato. *Nucleic Acids Research* **18**: 4929

6- SanMiguel, P and Tikhonov, A (1996). Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. *Science* **274(5288):** 765-768

7- Finnegan, D J (1989). Eukaryotic transposable elements and genome evolution. *Trends in Genetics* **5**(4): 103-107

8- Kumar, A and Bennetzen, J L (1999) Plant retrotransposons. *Annual Review of Genetics* **33:** 479-532

9- Kumar, A and Hirochika, H (2001). Applications of retrotransposons as genetic tools in plant biology. *Trends in Plant Science* **6**(3): 127-134

10- Kalendar, R, Grob, T, Regina, M, Suoniemi, A and Schulman, A (1999). IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics* **98**(5):704-711

11- Bennett, M D, Finch, R A and Barclay, I R (1976). The time and rate of chromosome elimination in *Hordeum* hybrids. *Chromosoma*, **54**: 175-200.

12- Pickering, R A (1985). Partial control of chromosome elimination by temperature in immature embryos of *Hordeum vulgare* L. × *Hordeum bulbosum* L. *Euphytica*, **34**(3): 869-874.

13- Murashige, T and Skoog, F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, **15**: 473-497.

14- Karp, A, Risiott, R, Jones, M G K and Bright, S W J (1984). Chromosome doubling in monohaploid and dihaploid potatoes by regeneration from cultured leaf explant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **3:** 363-373

15- Tai, H T and Tanksley, S D (1990). A rapid and inexpensive method for isolation of total DNA from dehydrated plant tissue. *Plant Molecular Biology Reporter*, **8**: 297-303.

16- Provan, J, Powell, W and Waugh, R (1996). Microsatellite analysis of relationships within cultivated potato (*Solanum tuberosum*). *Theoretical and Applied Genetics* **92**: 1078-1084

17- Milbourne, D, Meyer, R C, Collins, A J, Ramsay, L D, Gebhardt, C and Waugh, R (1998). Isolation, characterisation and mapping of simple sequence repeat loci in potato. *Molecular and General Genetics*, **259**: 233-245

18- Lightbourn, G and Veilleux, R (2003). Retrotransposon-based markers to characterize somatic hybrids and assess variation induced by protoplast fusion of monoploid potato. *Acta Horticulturae* **619:** 35-43

19- Pearce, S R and Kumar A (1996). Activation of the *Ty1*-copia group retrotransposons of potato (*Solanum tuberosum*) during protoplast isolation. *Plant Cell Reports* **15**(12): 949-953

20- Pouteau, S and Huttner, E (1991). Specific expression of the tobacco *Tnt1* retrotransposon in protoplasts. *EMBO Journal* **10(7):** 1911-1918

21- Hirochika, H and Sugimoto, K (1996). Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **93**(15): 7783-7788.

22- Harding, K (1991). Molecular stability of the ribosomal RNA genes in *Solanum tuberosum* plants recovered from slow growth and cryopreservation. *Euphytica* **55**(2): 141-146

23- Potter, R and Jones, M G K (1991). An assessment of genetic stability of potato *in vitro* by molecular and phenotypic analysis. *Plant Science* **76(2):**239-248

24- Wilkinson, M J (1992). The partial stability of additional chromosomes in *Solanum tuberosum* cv. Torridon. *Euphytica* **60:** 115-122

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1387.3.2.2.1]