

بررسی ارقام مختلف نارنگی انشو به عنوان والد ماده در دورگ گیری مرکبات

نگین اخلاقی امیری^{۱*}، علی اسدی کنگرشاهی^۲ و بهروز گلچین^۳

۱ و ۲. به ترتیب استادیار بخش تحقیقات زراعی و باغی و بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران، ۳. دانشیار بخش تحقیقات زراعی و باغی موسسه تحقیقات مرکبات ایران، رامسر، ایران.

* نویسنده مسئول: neginakhlaghi@yahoo.com

چکیده

در تحقیق حاضر، برای ایجاد ارقام جدید نارنگی، بین سه رقم مختلف نارنگی نر عقیم انشو: رقم میانرس سوجی یاما، رقم پیشرس میاگاوا و رقم دیررس ایشی کاوا به عنوان والدین مادری با نارنگی های پیچ، پونکن «یونسی» و کلمانتین به عنوان والدین پدری دورگ گیری انجام شد. نتایج نشان دادند که رقم مادری، در تعداد بذر تولید شده در میوه های حاصل از انجام دورگ گیری، نقش مهم تری داشته است. به طوری که، در رقم مادری میاگاوا با هیچ یک از ارقام پدری، بذری در میوه های رسیده، تشکیل نشد. در مقابل، رقم سوجی یاما، تعداد زیادی بذر تولید کرد. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، به نظر می رسد که همه کولتیوارهای نارنگی انشو، قادر نیستند به عنوان والد ماده، در تحقیقات دورگ گیری استفاده شوند و یکی از مهمترین نشانه ها در تشخیص احتمال عقیمی ماده، در وجود یا عدم وجود شیره کلالة در زمان آنتریز می باشد.

کلمات کلیدی: دورگ گیری مرکبات، پارتنوکاری، نر عقیمی، ماده عقیمی.

مقدمه

نارنگی انشو، یکی از ارقام بازار پسند نارنگی در شمال ایران، به ویژه در شرق استان مازندران است که دارای ارقام مختلف و زمان های رسیدن متفاوت (از بسیار زودرس تا دیررس) و نیز میوه با کیفیت عالی و بدون بذر است که صفات مناسبی برای انتقال و تولید رقم جدید به شمار می رود. بی بذری، می تواند از طریق پارتنوکاری (تشکیل میوه بدون لقاح) رخ بدهد. در عمل، کاهش در تعداد بذر در گیاهان پارتنوکارپ با خودناسازگاری و یا نر عقیمی تشدید می شود. خصوصیات مربوط به بی بذری مثل پارتنوکاری می تواند از طریق القای ژنی با روش های معمولی اصلاحی انتقال یابد. البته این روش ها در مرکبات محدودیت هایی دارند. اول، دوره طولانی نونهالی است که در این دوره، گل تشکیل نمی شود که سبب محدود شدن جمعیت دانهال برای نگهداری و ارزیابی های بعدی می شود. دوم، تلاش های اصلاحی به علت کمبود دانش نحوه وراثت پذیری خصوصیات خاص، محدود می شود. سوم، طبیعت پلی ژنیک بسیاری از صفات مهم، سبب محدود شدن تلاش های اصلاحی می شود. با وجود این محدودیت ها، اصلاح در درختان میوه، سبب بهبود ارقام شده است و استراتژی های مهم زیادی در حال انجام است (Vardi et al., 2008).

انواع مختلف پارتنوکاری وجود دارند. پارتنوکارپ اجباری همیشه میوه بدون بذر تولید می کند و پارتنوکارپ اختیاری وقتی گرده افشانی صورت نگیرد میوه بی بذر تولید می کند. در پارتنوکاری رویشی، تشکیل میوه بدون گرده افشانی صورت می گیرد ولی در پارتنوکاری تحریکی، تشکیل میوه بعد از گرده افشانی و البته بدون لقاح صورت گرفته و میوه بدون بذر تولید می شود. بی بذری همچنین می تواند از طریق استنواسپرموکاری ایجاد شود که در آن، گرده افشانی و لقاح رخ می دهد ولی سقط جنین تشکیل شده، موجب بی بذری میوه می شود (Vardi et al., 2008).

وقتی که رشد میوه از لقاح و رشد بذر مجزا باشد میوه تولید شده، بدون بذر خواهد بود. تلاش‌های اصلاحی برای تولید میوه‌های بدون بذر و با کیفیت مرکبات، در دهه‌های گذشته افزایش یافته است. البته تنها تعداد محدودی رقم مرکبات از جمله نارنگی انشو (*Citrus unshiu* Marc)، پرتقال واشنگتن ناول (*C. sinensis*)، لایم تاهیتی (*C. latifolia*) و اوروبلانکو (*C. grandis* × *C. paradise*) کاملاً بدون بذر هستند. در نارنگی انشو و پرتقال واشنگتن ناول، علاوه بر پارتنوکاری، عقیمی اندام نر و ماده هم دیده شده است (Iwamasa, 1966) که احتمال تولید میوه کاملاً بدون بذر را بیشتر می‌کند. در حقیقت در برخی ارقام مرکبات، درجه نر عقیمی می‌تواند نشان دهنده توانایی رقم برای تشکیل میوه بدون بذر یا بسیار کم بذر باشد. در نارنگی انشو، گاهی جفت نشدن کروموزوم‌ها طی میوز اتفاق می‌افتد (Iwamasa, 1966) و برخی از انشوها، نر عقیمی سیتوپلاسمیک (CMS) نشان می‌دهند (Yamamoto et al., 1997). نر عقیمی سیتوپلاسمیک (CMS) می‌تواند توسط ژنوم میتوکندری در گیاهان عالی همانند نارنگی ساتسوما (انشو) کنترل شود (Guo et al., 2004).

گونه‌های مرکبات به راحتی می‌توانند با یکدیگر تلاقی یابند. پیدایش دورگ‌های بین گونه‌ای و نیز دورگ‌های بین جنسی در این گروه از میوه‌ها امری معمول است. بر این اساس، گیاهشناسی مرکبات با مشکلات قابل توجهی مواجه خواهد بود. این مطلب بدین معناست که همواره با میوه‌های جدیدی از این گروه مواجه هستیم که ممکن است دورگ‌هایی حاصل از برنامه‌های اصلاحی، تلاقی‌های تصادفی و یا جهش‌های مصنوعی و طبیعی باشند (Ray, 2002). در تحقیق حاضر، برای ایجاد ارقام جدید نارنگی و به منظور استفاده از خصوصیات خوب نارنگی انشو، بین ارقام مختلف نارنگی انشو (به‌عنوان والد مادر) با نارنگی‌های پیچ، پونکن و کلمانتین (به‌عنوان والد پدر) دورگ‌گیری انجام شد. فازهای بعدی این تحقیق شامل کاشت بذور میوه‌های دورگ، در خزانه و پیوند دانه‌های جنسی روی پایه‌های مناسب برای انجام ارزیابی‌های تفصیلی گیاه و میوه و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر در باغ خواهد بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتور اول شامل سه رقم مختلف نارنگی انشو: A1: نارنگی انشوی سوچی‌یاما (*Citrus unshiu* cv. Sugiyama)، A2: نارنگی انشوی میاگاوا (*Citrus unshiu* cv. Miyagawa) و A3: نارنگی انشوی ایشی‌کاوا (*Citrus unshiu* cv. Ishikawa) بود که به عنوان والد مادری در آزمایش دورگ‌گیری استفاده شدند. فاکتور دوم شامل سه رقم مختلف نارنگی: B1: نارنگی کلمانتین (*Citrus reticulata* cv. Clementine)، B2: نارنگی پیچ (*Minneola tangelo* × *Clementine mandarin*)، B3: نارنگی پونکن (*Citrus reticulata* cv. Ponkan)، بود که به عنوان والد پدری در آزمایش دورگ‌گیری استفاده شدند. جهت انجام دورگ‌گیری مراحل زیر انجام شد:

به منظور جمع‌آوری گرده از والد‌های پدری حدود ۲۵۰ - ۲۰۰ کپسول گل کامل و توسعه یافته در مرحله نزدیک به باز شدن، جمع‌آوری شدند. سپس کپسول‌ها در یک اتاق مناسب و به دور از نفوذ حشرات قرار داده شدند. بعد از حذف گلبرگ‌ها و مادگی، بساک‌ها به پتری‌دیش منتقل و در دمای معمولی اتاق (۲۴-۲۶ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. بعد از باز شدن کیسه‌های بساک، محتویات هر پتری‌دیش به شیشه‌های کوچک استریل و دارای برچسب، منتقل شد. سپس در شیشه‌ها بسته شده و در فریزر قرار داده شدند. از هر یک از ارقام والد مادری، سه درخت سالم و هم سن که دارای تعداد گل کافی بودند انتخاب شد. هر یک از درختان برای دورگ‌گیری با یکی از والد‌های پدری، در نظر گرفته شد. در هر درخت حدود ۴۵ عدد پاکت روی گل‌آذین‌های شاخه‌های

یک ساله بعد از حذف گل‌های کوچک و ضعیف و نیز حذف گل‌های باز یا نیمه‌باز قرار داده شد. چون ارقام نارنگی انشو، نر عقیم هستند و گرده‌های فعالی ندارند نیازی به اخته کردن گل‌های مادری نبود. بعد از باز شدن گل‌ها و گرده‌گذاری، گل‌ها دوباره توسط پاکت‌های کاغذی پوشانیده شدند. در بازدیدهای بعدی، در گل‌هایی که سطح کلالة قهوه‌ای شده و میوه‌چه تشکیل شده بود پاکت‌ها از روی شاخه‌ها برداشته شدند. سپس میوه‌چه‌های تشکیل شده با برجسیبی که کد والد پدری روی آن نوشته شده بود علامت‌گذاری شدند. شمارش میوه‌چه‌ها و میوه‌ها در مراحل بعد از تشکیل میوه‌چه، بعد از ریزش فیزیولوژیک تابستانه (جون دراپ) و در زمان برداشت نیز انجام شد. زمان هر یک از مراحل فنولوژیکی، به دلیل تفاوت ارقام نارنگی انشو در زمان رسیدن میوه، با یکدیگر متفاوت بود. میوه‌ها پس از رسیدن کامل، جمع‌آوری و بذری‌گیری شدند و بذور با قارچکش کاپتان به نسبت ۲ در هزارضد عفونی گردیدند. در نهایت، تعداد بذری تشکیل شده در همه تیمارها و تکرارها شمارش شد.

نتایج و بحث

جدول ۱، تعداد میوه‌چه و میوه در مراحل تشکیل میوه‌چه، بعد از ریزش فیزیولوژیک تابستانه و در زمان برداشت و نیز تعداد بذری به دست آمده از این میوه‌ها را نشان داده است.

جدول ۱. شمارش میوه‌های تشکیل شده بعد از گرده‌گذاری دستی، در مراحل مختلف

| تعداد بذری تشکیل شده | تعداد میوه در زمان برداشت | تعداد میوه‌چه‌ها بعد از جون دراپ | تعداد میوه‌چه‌های تشکیل شده | تیمار |
|----------------------|---------------------------|----------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| ۳۴ | ۴۶ | ۵۱ | ۱۰۰ | A1 B1 سوجی یاما × کلماتین |
| ۳۵۳ | ۷۵ | ۹۰ | ۱۲۹ | A1 B2 سوجی یاما × پیچ |
| ۱۲۰ | ۲۴ | ۳۵ | ۷۳ | A1 B3 سوجی یاما × پونکن |
| ۰ | ۱۸ | ۲۳ | ۲۳ | A2 B1 میاگاوا × کلماتین |
| ۰ | ۲۲ | ۲۲ | ۴۰ | A2 B2 میاگاوا × پیچ |
| ۰ | ۲۵ | ۳۱ | ۶۹ | A2 B3 میاگاوا × پونکن |
| ۱۱ | ۱۶ | ۳۱ | ۱۲۰ | A3 B1 ایشی کاوا × کلماتین |
| ۲ | ۱۲ | ۲۱ | ۱۰۵ | A3 B2 ایشی کاوا × پیچ |
| ۱۴ | ۱۴ | ۱۴ | ۹۸ | A3 B3 ایشی کاوا × پونکن |

کلالة‌های نارنگی‌های انشو رقم سوجی یاما، دارای شیرة کلالة بودند و گرده‌ها کاملاً روی شیرة‌های کلالة قرار می‌گرفتند و با توجه به جدول ۱، تعداد زیادی میوه و بذری تولید کردند. از طرف دیگر، کلالة‌های نارنگی انشوی رقم میاگاوا، چسبندگی بسیار کمی داشتند و تقریباً خشک بودند و در واقع غالب گرده‌ها، هنگام گرده‌گذاری، روی کلالة نمی‌چسبیدند و همان‌طور که در جدول ۱، ملاحظه می‌شود میوه‌های تشکیل شده، در این رقم، فاقد بذری بودند. در مقابل، کلالة‌های نارنگی انشوی رقم ایشی کاوا تا حدودی چسبندگی داشتند ولی بسیار کمتر از مقداری که در رقم سوجی یاما مشاهده شد بنابراین تعداد بذری تشکیل شده در این رقم، حدواسط دو رقم دیگر بود (جدول ۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که علاوه بر تاثیر مستقیم شرایط آب و هوایی بر تشکیل میوه و بذری در نارنگی انشو، تفاوت بسیاری در ارقام مختلف نارنگی انشو در ساختار اندام‌های زایشی وجود دارد. علاوه بر اثبات پارتنوکاری در این نارنگی (Vardi et al., 2008)، وجود نر عقیمی و ماده عقیمی در کولتیوارهای مختلف نارنگی انشو گزارش شده است (Iwamasa, 1966). با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، به نظر می‌رسد که همه ارقام نارنگی انشو، قادر نیستند

به‌عنوان والد ماده، در تحقیقات دورگ‌گیری استفاده شوند و قبل از اجرای دورگ‌گیری با این رقم، ضروری است از عقیم نبودن والد ماده در کولتیوار مورد نظر، اطمینان حاصل کرد. همچنین، می‌توان گفت که یکی از مهمترین نشانه‌ها در تشخیص احتمال عقیمی ماده، در وجود یا عدم وجود شیره کلالة در زمان آنتزیز باشد.

منابع

1. Guo, W.W., Prasad, D., Cheng, Y.J., Serrano, P., Deng, X.X. and Grosser, J.W. 2004. Targeted cybridization in citrus: transfer of Satsuma cytoplasm to seedy cultivars for potential seedlessness. *Plant Cell Rep.* 22: 752-758.
2. Iwamasa, M. 1966. Studies on the sterility in genus *Citrus* with special references to seedlessness. *Buletin of the Horticultural Research Station, Japan Ministry of Agriculture and Forestry.* B6: 1-77.
3. Ray, P.K. 2002. *Citrus*. In: *Breeding Tropical and Subtropical Fruits*. Springer-Verlag Narosa Publishing House, P. 338.
4. Vardi, A., Levin, I. and Carmi, N. 2008. Induction of seedlessness in citrus: from classical techniques to emerging biotechnological approaches. *Journal of American Society for Horticultural Science.* 133 (1): 117-126.
5. Yamamoto, M., Okudai, N. and Matsumoto, R. 1992. Segregation for aborted anthers in hybrid seedling using *Citrus nobilis* × *C. deliciosa* cv. Encore as the seed parent. *Journal of Japanese for Horticultural Science.* 60: 785-789.

Evaluation of different Satsuma mandarin cultivars as female parent in citrus hybridization

N. Akhlaghi Amiri^{1*}, A. Asadi Kangarshahi², B. Golein³

1, 2. Respectively, associate professor of Horticulture Crops Research Dep. and Soil and Water Dep., Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sari, Iran, 3. Assistant professor of Horticulture Crops Research Dep., Iran Citrus Research Institute, AREEO, Ramsar, Iran.

*Corresponding author: neginakhlaghi@yahoo.com

Abstract

In this research, to create new mandarin cultivars, hybridization was performed with 3 different cultivars of Satsuma mandarin: Sugiyama (mid season), Miyagawa (early season) and Ishikawa (late season) as female parent and Page, Ponkan and Clementine mandarin as male parents. Results showed that female parents have a more important role in seed number of hybridization fruits. So that, in Miyagawa female parent with none of three male parents, didn't form any seed in harvested fruits. In contrast, Sugiyama fruits had produced many seeds. According to results, all Satsuma mandarin cultivars cannot be used in hybridization research and one of the main symptoms in the diagnosis of female sterility is present or absent of stigma sap at anthesis time.

Key words: Citrus hybridization, parthenocarpy, male sterility, female sterility.