

بررسی تیمارهای دمایی مختلف بر درصد جوانه‌زنی و رشد طولی لوله‌گرده، دانه‌های گرده انباری برخی از ژنوتیپ‌ها و ارقام مرکبات در شرایط درون شیشه‌ای

بهمن داداش‌زاده^{۱*}، فرهاد رفعت^۲، مالک قاسمی^۳

^{۱*} پژوهشگر پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری

^۲ عضو هیئت‌علمی پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری

^۳ استادیار پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری

* نویسنده مسئول: b.dadashzade@yahoo.com

چکیده

منظور از این تحقیق بررسی تیمارهای دمایی مختلف، بر درصد جوانه‌زنی و رشد طولی لوله‌گرده دانه‌های گرده انباری برخی از ژنوتیپ‌ها و ارقام مرکبات در شرایط درون شیشه‌ای بود. از محیط کشت، که شامل اسیدبوریک (۴۰ پی‌پی‌ام)، سوکروز و آگار (به ترتیب ۱۵۰ و ۷ گرم در لیتر)، جهت تعیین درصد جوانه‌زنی استفاده شد. دانه‌های گرده پونسیروس تریفولیاتا، ترویرسیترنج، نارنج، یاشار و پرتقال محلی در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند. به دلیل تفاوت در زمان گل‌دهی ژنوتیپ‌ها، جمع‌آوری گرده در زمان مناسب هر کدام، صورت گرفت. دانه‌های گرده جمع‌آوری شده در تیوپ‌های پلاستیکی و در شرایط دمایی مناسب نگهداری شدند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین سه‌ساله برهمکنش تیمارهای دمایی مختلف، بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده، اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ را نشان داد. به‌طوری‌که بیشترین برهمکنش مربوط به تیمار دمایی منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد، که در کلاس a و کمترین برهمکنش مربوط به تیمار دمایی ۴ درجه سانتی‌گراد که در کلاس c قرار دارند. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین سه‌ساله برهمکنش ژنوتیپ‌ها بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده، اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ را نشان داد. به‌طوری‌که بیشترین برهمکنش مربوط به رقم دورگ یاشار، که در کلاس a و کمترین برهمکنش مربوط به ژنوتیپ‌های سیترنج و نارنج که در کلاس c قرار دارند. همچنین نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب سه‌ساله در خصوص درصد رشد طولی لوله‌گرده، در محیط کشت، بیانگر آن بود که، برهمکنش تیمارهای دمایی مختلف بر ژنوتیپ‌ها، در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت.

کلمات کلیدی: مرکبات، دانه‌گرده، جوانه‌زنی، یاشار

مقدمه

حفظ قوه‌ی نامیه‌ی دانه‌های گرده در گیاهان، به‌منظور رفع مشکل زمان و مکان در انجام گرده‌افشانی‌های مصنوعی، همواره مورد توجه به‌نژادگران اصلاح نباتات بوده است. دانه‌های گرده در امر باروری و تولید نسل، نقش به‌سزایی را ایفا می‌کنند. اصلاح‌کننده‌گان مرکبات، اغلب با موانعی هم‌چون، عدم هم‌زمانی دوره‌های گل‌دهی، چند جنینی بودن بذر، ناسازگاری برخی از ارقام، طولانی بودن دوره نونهالی و تمایل برخی از ارقام به سال‌آوری، مواجه هستند (برعندان و همکاران، ۱۳۹۱). بنابراین، جهت سهولت اجرا برنامه‌های به‌نژادی از طریق گرده‌افشانی، نگهداری دانه‌های گرده برای مدت طولانی غیر قابل اجتناب و امری ضروری است. یکی از بهترین شیوه‌های حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی گیاهی، نگهداری دانه‌های گرده، در تیمارهای دمایی مناسب است. اصلاح‌گران در انجام گرده‌افشانی‌های مصنوعی، دانه‌های گرده پونسیروس تریفولیاتا را به دلیل غالب بودن صفت سه‌برگچه‌ای، به‌عنوان والد نر در سطح گسترده استفاده می‌کنند. این رقم جزو ارقام زودگل در خانواده مرکبات به‌شمار آمده و در بهار نسبت به سایر ارقام، گل‌ها زودتر باز می‌شوند. همچنین از ارقام دیرگل و تک‌جنین، مانند نارنگی کلمانتین، عمدتاً به‌عنوان والد ماده نیز استفاده می‌گردد. هدف از این تحقیق در واقع بررسی تیمارهای دمایی مختلف، بر درصد جوانه‌زنی و رشد طولی لوله‌گرده، دانه‌های گرده انباری برخی از ژنوتیپ‌ها و ارقام مرکبات در شرایط درون شیشه‌ای

برای طولانی مدت بود. به‌عنوان مثال فاصله زمانی شکوفایی گل‌ها در ژنوتیپ پونسیروس تری فولیانا نسبت به رقم کامکوات به ۹۰ تا ۱۴۰ روز نیز می‌رسد. لذا عدم هم‌زمانی دوره‌های گل‌دهی در خانواده مرکبات از نظر اصلاح‌گران نباتات می‌تواند به‌عنوان یک مشکل جدی در امر تلاقی‌ها باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق به بررسی تیمارهای دمایی مختلف، بر درصد جوانه‌زنی و رشد طولی لوله‌گرده، دانه‌های گرده انباری پنج ژنوتیپ و ارقام مرکبات (پونسیروس تریفولیانا، تروپرسیترنج، نارنج، دورگ‌یاشارو پرتقال محلی) پرداخته شد. این تحقیق به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش فاکتوریل با سه تکرار و دو فاکتور (فاکتور A شامل روش نگهداری دانه‌گرده در ۳ سطح (+۴ و -۲۰ و -۸۰ درجه سانتی‌گراد) و فاکتور B شامل ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف در ۵ سطح به اجرا در آمد. در هر تکرار از یک لام استفاده شده است. این آزمایش در آزمایشگاه پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری انجام گرفت. مواد آزمایشی این تحقیق، دانه‌های گرده از درختان بالغ واقع در پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه‌گرمسیری جمع‌آوری شدند. برای این منظور از گل‌هایی که در حالت نیمه‌شکوفای کاملاً متورم و آماده باز شدن بودند، استفاده شد. بساک‌های جمع‌آوری شده را بر روی ورق مومی و در محیط ایزوله در داخل ظروف شیشه‌ای ریخته، جهت کاهش رطوبت دانه‌های گرده، آن‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه دسیکاتور حاوی ماده ژل‌سیلیکا و در دمای محیط (۲۴±۱) قرار دادیم. پس از گذشت مدت فوق و پاره شدن بساک‌ها و آزادسازی دانه‌های گرده، نسبت قرار دادن آن‌ها در تیوپ‌های پلاستیکی درب‌دار شفاف، جهت اعمال تیمارهای دمایی مختلف (+۴، -۲۰ و -۸۰ درجه سانتی‌گراد)، به مدت ۱۴۰ روز و به فاصله زمانی هر ۲۰ روز یک‌بار، نسبت به خروج دانه‌های گرده، اقدام شد. در این روش، ابتدا، محیط کشت آماده شده را بر روی لام‌ها ریخته، سپس گرده‌ها را توسط یک قلم موی نقاشی، به آرامی بر روی محیط کشت، پخش نمودیم. با قرار دادن آن‌ها در درجه حرارت مناسب محیط (۲۴±۱) درجه سانتی‌گراد، به مدت ۴۸ ساعت و ثابت نمودن نمونه‌ها، نسبت به شمارش دانه‌های گرده جوانه‌زده در زیر میکروسکوپ نوری از طریق مشاهده میدین گوناگون اقدام شد. دانه‌ی گرده‌ای جوانه‌زده محسوب می‌شد که، حداقل رشد طولی لوله‌گرده آن مساوی یا دو برابر طول قطر آن باشد. اندازه رشد طولی لوله‌های گرده با استفاده از یک صفحه شیشه‌ای مدرج میکرومتری که در عدسی چشمی قرار داشت، اندازه‌گیری شدند. داده‌های به دست آمده در دفتر کار روزانه ثبت شدند. آنالیز و مقایسه میانگین داده‌ها در خصوص بررسی تیمارهای دمایی مختلف و ژنوتیپ‌ها بر درصد جوانه‌زنی و رشد طولی لوله‌های گرده ژنوتیپ‌ها، با استفاده نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتیجه و بحث

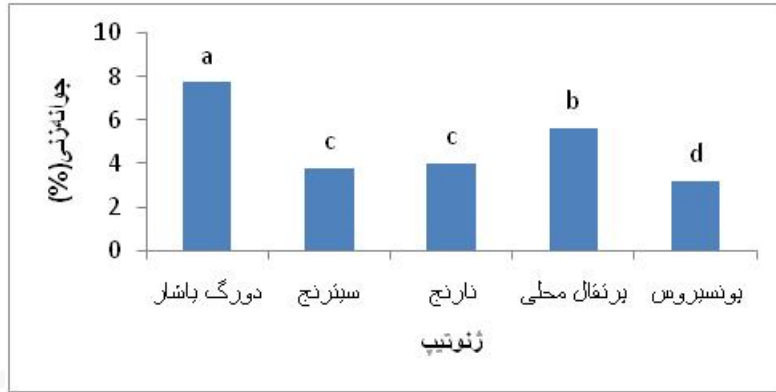
نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب سه‌ساله در خصوص درصد جوانه‌زنی و رشد طولی لوله‌گرده دانه‌های گرده انباری در محیط کشت، بیانگر آن بود که، برهمکنش سطوح تیمار دمایی و برهمکنش تیمارهای دمایی مختلف بر ارقام، در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت. نتایج حاصل در این مورد با نتایج داداش‌زاده (۱۳۹۲)، قاسمی (۱۳۸۲)، گل‌عین (۱۳۷۶)، اسدی (۱۳۷۵) و احمدی (۱۳۷۹)، مطابقت دارد. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین سه‌ساله بررسی اثر ژنوتیپ‌ها بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در محیط کشت، نشان داد که، بیشترین اثر مربوط به رقم دورگ‌یاشار، که در کلاس a و کمترین اثر مربوط به ژنوتیپ‌های سیترنج و نارنج که در کلاس C قرار دارد، بودند (شکل ۱).

¹Troyer Citrange (Poncirus trifoliata × Citrus paradise C.V Dankan)

²Sour orange

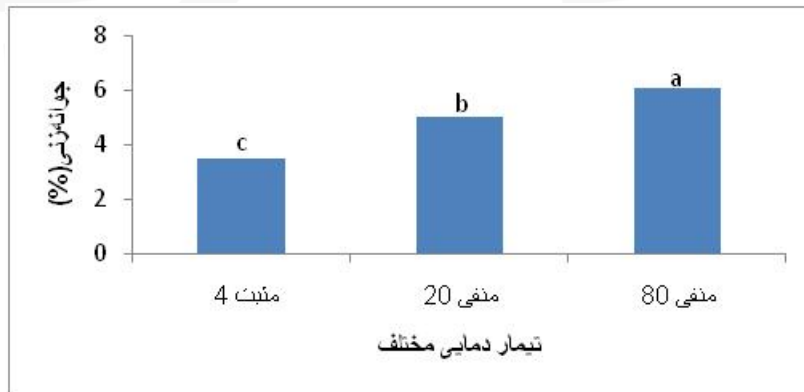
³Yashar (Mineolla tangelo × Changsha)

⁴Local orange



شکل ۱- مقایسه میانگین سه‌ساله بررسی اثر ژنوتیپ‌ها بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده در محیط کشت

نتایج حاصل از مقایسه میانگین سه‌ساله بررسی تیمارهای دمایی مختلف، نشان داد که بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای دمایی ۸۰- و ۴+ درجه سانتی‌گراد، که در کلاس‌ها a و c قرار دارند (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین سه‌ساله بررسی تیمارهای دمایی مختلف بر درصد جوانه‌زنی دانه گرده در محیط کشت

نتایج مقایسه میانگین سه‌ساله برهمکنش تیمارهای دمایی مختلف و سال بر ژنوتیپ‌ها، بر میزان رشد طولی لوله گرده در محیط کشت، نشان داد که بیشترین برهمکنش، مربوط به سال اول و ژنوتیپ دورگ یاشار از تیمار دمایی ۸۰- درجه سانتی‌گراد، و کمترین برهمکنش مربوط به سال‌های اول و ژنوتیپ پونسیروس تریفولیاتا از تیمار دمایی ۴+ درجه سانتی‌گراد، بودند. همچنین نتایج مقایسه میانگین سه‌ساله برهمکنش سطوح تیمار دمایی بر ژنوتیپ‌ها بر درصد قابلیت جوانه‌زنی دانه گرده‌ی انباری، نشان داد که، بیشترین برهمکنش مربوط به سال دوم و ژنوتیپ دورگ یاشار از تیمار دمایی ۸۰- درجه سانتی‌گراد، و کمترین برهمکنش مربوط به سال‌های اول و دوم و ژنوتیپ پونسیروس تریفولیاتا از تیمار دمایی ۴+ درجه سانتی‌گراد، بودند. وجود تفاوت‌های مختلف در قابلیت جوانه‌زنی را می‌توان به شرایط نگهداری دانه گرده و نوع ژنوتیپ‌ها نسبت داد. از دست رفتن قوه‌ی نامیه و کاهش درصد قابلیت جوانه‌زنی دانه گرده نگهداری شده در دمایی ۴+ درجه سانتی‌گراد نسبت به تیمارهای دمایی ۲۰- و ۸۰- درجه سانتی‌گراد را می‌توان به دلیل از دست دادن سریع و تدریجی آب دانه گرده، دانست. به طوری که موجبات کاهش و شدید فرآیندهای متابولیکی و تنفسی را در پی خواهد داشت. علت این تفاوت‌ها را نیز می‌توان به کاهش تدریجی پروتئین‌ها و فعالیت آنزیمی گرده دانست. از آنجایی که در گرده‌های سه‌هفته‌ای، خشک شدن دانه گرده به هسته زایشی آسیب می‌رساند، لذا می‌تواند موجبات کاهش درصد قابلیت جوانه‌زنی گرده را در طول مدت نگهداری فراهم سازد. لذا، خشک شدن دانه‌ی گرده، موجبات تغییرات ساختمانی شدید در غشاءها و نفوذپذیری سیتوپلاسم را فراهم می‌سازد. نتایج گزارش Linskens (۱۹۶۴)، مبنی بر کاهش طول عمر دانه گرده مرکبات پس از گذشت چند ماه، با نتایج به دست آمده در این تحقیق مطابقت دارد. وجود چنین تفاوت‌هایی در گزارش‌های داداش‌زاده (۱۳۹۲) و احمدی (۱۳۷۹)، در بین ژنوتیپ‌های مرکبات نیز دیده شده است. همچنین نتایج مقایسه میانگین سه‌ساله اثر تیمارهای دمایی بر میزان رشد طولی لوله

گرده، نشان داد که بیشترین و کمترین میزان رشد مربوط به تیمارهای دمایی ۸۰ - و ۴ + درجه سانتی‌گراد بودند. وجود متفاوت میزان رشد طولی لوله گرده در این تحقیق را می‌توان به شرایط تغذیه درخت، جذب عناصر غذایی علل‌الخصوص عنصر بر (B)، دانست. بررسی اثر مراحل مختلف نمونه‌گیری دانه‌های گرده انباری و کشت آن‌ها در محیط کشت، بر میزان رشد طولی لوله گرده (بر حسب روز)، نشان داد که بین مراحل مختلف نمونه‌گیری و کشت در محیط کشت در آزمایشگاه، تفاوت‌هایی وجود دارد. علت این تفاوت را می‌توان به نوع تغذیه، آبیاری درختان و شرایط اقلیمی دانست.

منابع

- اسدی‌آبکنار، الف؛ لسانی، ح؛ ابراهیمی، ی و وزوایی، ع. ۱۳۷۵. بررسی اثرات دانه‌ی گرده ارقام مختلف مرکبات روی پاره‌ای از صفات کمی و کیفی نارنگی کلمانتین. پایان‌نامه دوره تحصیلی کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. ۱۱۹ صفحه.
- احمدی، ن؛ ۱۳۷۹. مطالعه نگهداری، جوانه‌زنی و رشد طولی لوله گرده برخی از ارقام مرکبات. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. پایان‌نامه دوره تحصیلی کارشناسی ارشد.
- برعدنان، الف؛ گلچین، ب و صداقت‌جور، ش؛ ۱۳۹۱. ارزیابی تحمل به شوری از کلرید سدیم در برخی ارقام زینتی و مورفوتیپ‌های مرکبات در سطح دانه گرده. پایان‌نامه دوره تحصیلی کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت. ۹۲ صفحه
- داداش‌زاده، ب؛ ۱۳۹۲. بررسی تعیین درصد قابلیت زیوایی و جوانه‌زنی و رشد طولی لوله گرده در برخی از ژنوتیپ‌های مرکبات. دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابهر. پایان‌نامه دوره تحصیلی کارشناسی ارشد.
- قاسمی، م. زمانی؛ ذ. الف؛ عبادی، ع و یونس ابراهیمی، ۱۳۸۲. بررسی امکان دورگ‌گیری برخی پایه‌های مرکبات و جداسازی جنین‌های رویشی و زایشی با استفاده از مطالعات میکروسکوپی و نشانگر مولکولی. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. پایان‌نامه دکتری. ۱۴۹ صفحه.
- گلچین، ب. عدولی، ب. ۱۳۹۰. مرکبات (کاشت). انتشارات نوین پویا. صفحه ۱۶۰

Linskens, H. F. 1964. Pollen Physiology and Fertilization. North- Holland Publishing Company.



Evaluation of Temperature Treatments and Storage Time on Germination of Pollen Grains and Some Citrus Varieties Genotypes and Pollen Tube Growth in Vitro

B. dadashzadeh ^{1*}, F. Rafat ² M. ghasemi ³

*Corresponding Author: dadashzade@yahoo.com

Abstract

The purpose of this study was to investigate different thermal treatments on germination and pollen tube growth of pollen grains stored some citrus cultivars and genotypes in vitro, respectively. Medium, which contains boric acid (40 ppm), sucrose agar (respectively 150 and 7 grams per liter), was used to determine the percentage of germination. more pollen grains Poncirus trifoliata, Troyer Citrange, local orange and Yashar conditions were evaluated. Genotypes due to the difference in flowering time, pollen at the right time each took place. Pollen grains collected in plastic tubes and were stored at proper temperature conditions. The results of the latest three-year average temperature interaction of different treatments on the germination of pollen, showed no significant difference in the level of 1%. So that the most negative reaction to the treatment temperature of - 80 ° C, which is class(A) 4 ° C and minimum interaction of treatment with the class (C). The results of comparing the average three-year genotype interaction on the germination of pollen grains, showed no significant difference in the level of 1%. So that maximum interaction of the Yashar, which is in a class and the least interaction of genotype Citrange and orange are in class (C).

Keywords: Citrus, pollen, germination, yashar

IrHC 2017
T e h r a n - I r a n