# تاثیر تنک کننده ها بر جوانه زنی دانه گرده سیب در شرایط درون شیشه ای

وحید بی ستونی [۱]، علی ایمانی [۲*]، مهرشاد زین العابدینی [۳]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابهر. ۲- دانشیار بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال. ۳- بخش تحقیقات ژنومیکس موسسه بیوتکنولوژی کرج.
E-mail: Imani_a45@yahoo.com

## چکیده

تنک کردن گل و میوه در سال های پر محصول موجب کاهش مصول ، افزایش اندازه میوه ، افزایش عملکرد میوه ، تحریک تشکیل گل برای سال بعد و کاهش سال آوری می شود.بنابراین آزمایشی با ده تیمارتنک کننده شاهد، ازت ۱۰در هزار در ۱۰٪ گل ، ازت ۲۵ در هزار در ۱۰٪ گل ، ازت ۱۵در هزار در ۲۵٪ گل ، ازت ۱۵در هزار در ۱۰٪ گل ، GA3 ۴۰ پی پی ام در۱۰٪ گل ، GA3 ۶۰ پی پی ام در۱۰٪ گل ، 24D ۴۰ پی پی ام در۱۰٪ گل ،24D ۶۰ پی پی ام در۱۰٪ گل ،24D ۴۰ پی پی ام در۲۵٪ گل و 24D ۶۰ پی پی ام در۲۵٪ گل به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تیمارهای مختلف روی در صد جوانه زنی دارای اثرات متفاوت بود. بالاترین صد جوانه زنی(به طور متوسط۹۷ در صد) برای رقم برابورن در تیمار شاهد به دست آمد.پایین ترین درصد جوانه زنی(با ۷ درصد) در رقم برابورن در محلول پاشی GA3 ۴۰ پی پی ام در۱۰٪ گل به دست آمد.
کلمات کلیدی:سیب، جوانه زنی، کشت درون شیشه ای، تنک کننده

## مقدمه

از مشکلات عمده سیب کشور تولید میوه های کوچک و با اندازه نامناسب می باشد که اکثراً به دلیل تشکیل زیاد میوه می باشد. بنابراین ،قسمت اعظم میوه تولیدی از بازار پسندی خوبی برخوردار نمی باشند. به طوری که در بازار تاثیر منفی بر این محصول به جا می گذارد. دلایل این نوع خسارت ها اکثراً به دلیل عدم مدیریت صحیح باغ می باشد(ایمانی، ۱۳۸۳). بنابراین در برنامه های به باغی رعایت اصول باغداری جهت دستیابی به باغات با بهره وری بالا ،محصول زیاد وبازار پسند از مهمترین اهداف بهره وری تولید می باشد. از طرفی، ایران به دلیل شرایط اقلیمی مناسب , یکی از مهمترین مراکز عمده سیب کاری و پرورش آن در دنیا است به طوری که کشور ما طبق گزارش فائو (۲۰۰۹) جزو ۵ کشورعمده تولید کننده سیب دردنیا می باشد. بنابراین رعایت اصول علمی درتولید محصول و مدیریت باغات سیب و عوامل مؤثر در این امرمی تواند بهره وری باغ های سیب کشور راچندین برابر افزایش دهد. چون یکی از مهمترین عوامل کاهنده کمی وکیفی محصول سیب را می توان به تولید میوه های کوچک و با اندازه نامناسب ربط داد(ترومپ،۲۰۰۰). در مناطق پرورش سیب در دنیا گزارش گردیده است که برخی از عملیات باغی از جمله تنک کردن نقشی مهمی در تولید محصول با کیفی سیب بازی می کند(کاستا و همکاران،۲۰۰۰). دراین فرایند نسبت برگ به میوه در حد مطلوب تنظیم می شود. این نسبت به وسیله حذف تعدادی از گل ها متعادلی شده و باعث بزرگتر شدن اندازه میوه های باقی مانده می شود . بنابراین تنک کردن گل و میوه در سال های پر محصول موجب کاهش شکستن شاخه ها ، افزایش اندازه میوه ، بهبود رنگ میوه ، افزایش کیفیت میوه ها ، تحریک تشکیل گل برای سال بعد و کاهش سال آوری ، تنظیم نسبت میوه به شاخه و کاهش هزینه های باغداری می شود (راسکو، ۲۰۰۶ ؛استوپار،۲۰۰۶). لذاامروزه تقاضای قوی برای میوه های بزرگ و با کیفی در درختان میوه به ویژه در سیب و گلابی وجود دارد.برای این منظور از تنک کننده ها ازجمله تنک کننده های شیمیایی به دلیل سهولت کاربرد برای کاهش بار محصول[1] که به نوبه خود تاثیر در افزایش اندازه میوه

[1] crop load

دارد،استفاده می شود. همچنین علاوه بر کاهش هزینه عملیات تنک وافزایش اندازه و کیفیت میوه می توان از سایر مزایای تنک کننده های شیمیایی به کاهش سال آوری۲ و افزایش عملکرد میوه۳را نام برد. گزارش ها نشان می دهد که تنک کننده های شمیایی مثل تیوسولفات آمونیوم۴() با میزان مصرفی بین ۶/ تا ۱٪ درست کار برد بعد از تمام گل باعث تنکی گل ها می شوند. کار برد این نوع مواد در زمان گل باعث اختلال در گرده افشانی وتلقیح تخمک می شود(کاستا و همکاران،۱۹۹۵) و سبب ریزش گل ومیوه های کوچک می گردند. به عنوان مثال کاربرد تنک کننده شیمیایی آرموتین۵ سبب شکوفایی زود هنگام بساک شده ودر نتیجه کاهشی در جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده ایجاد می شود. البته مقدار مصرفی و زمان کاربرد با توجه به مرحله نمو گل دارای اثرات متفاوت هستند(لیچو و همکاران،۱۹۹۶).به طوری که کاربرد جیبرلین ها از زمان باز شدن گل ها تا ۴۷ روز بعد از گل دهی ،تشکیل جوانه گل وبه دنبال آن تولید محصول سال آینده را کاهش می دهد(بایر،۱۹۹۰). در این راستا آزمایشی در رابطه با تاثیر محلول پاشی ارقام سیب با مواد مختلف تنک کننده در زمان های مختلف گل دهی بر جوانه زنی دانه گرده سیب در شرایط درون شیشه ای انجام گرفت.

**مواد وروش ها**

این آزمایش در اسفند سال۱۳۹۱ در منطقه خرم دره واقع در استان زنجان بر روی درختان بارور سیب ارقام برابورن و دلبار استیوال ۶ ساله با ده تیمارتنک کننده به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای این کار، عملیات محلول پاشی در مراحل مختلف گل دهی که درجدول ۱ ارائه شده، انجام گردید

جدول ۱ تیمار محلول پاشی ارقام سیب با مواد مختلف تنک کننده در زمان های مختلف گل دهی

| کد تیمار | تیمار محلول پاشی با ماده تنک کننده | غلظت ماده تنک کننده | زمان محلول پاشی |
|---|---|---|---|
| T0 | شاهد= | | |
| T1 | ازت = | ۱۰در هزار | ۱۰٪ گل |
| T2 | = | ۱۵در هزار | ۱۰٪ گل |
| T3 | ازت = | ۱۰در هزار | ۲۵٪ گل |
| T4 | ازت = | ۱۵در هزار | ۲۵٪ گل |
| T5 | =GA3 | ۴۰ پی پی ام | ۱۰٪ گل |
| T6 | =GA3 | ۶۰ پی پی ام | ۱۰٪ گل |
| T7 | = 24D | ۴۰ پی پی ام | ۱۰٪ گل |
| T8 | = 24D | ۶۰ پی پی ام | ۱۰٪ گل |
| T9 | = 24D | ۴۰ پی پی ام | ۲۵٪ گل |
| T10 | = 24D | ۶۰ پی پی ام | ۲۵٪ گل |

[2] biennial bearing
[3] fruit yield
[4] Ammonium-Thiosulphate
[5] ArmoThin

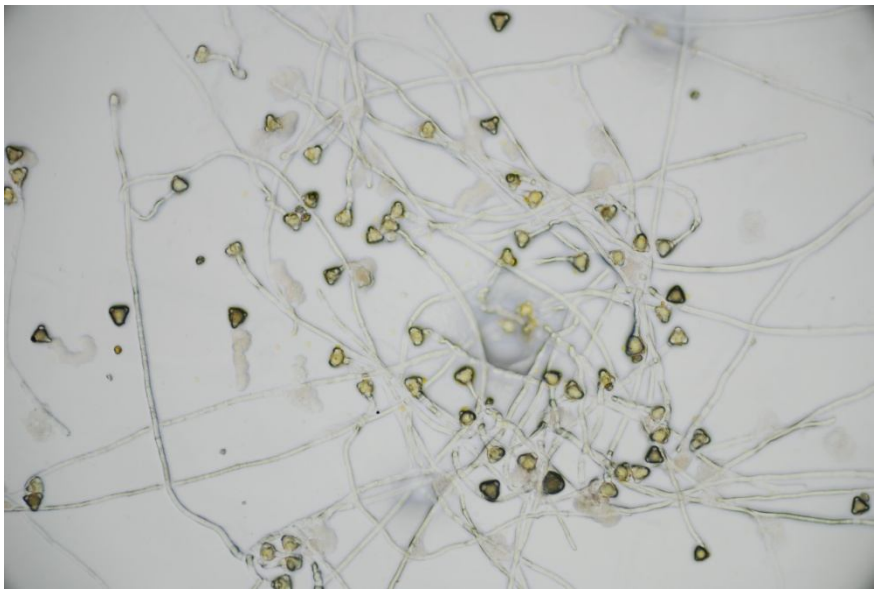
بعد از محلول پاشی به منظور جمع‌آوری دانه گرده ، شاخه‌های حاوی غنچه به طول تقریبی ۳۰ سانتیمتر ازسیب تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند . پس از قطع چند سانتیمتر از قسمت پایین شاخه‌ها ، آنها در ظروف آب مقطر حاوی ۵٪ ساکارز قرار گرفتند .پس از گذشتت ۲۴ ساعت و زمانی که غنچه‌ها در انتهای مرحله بادکنکی شکل۶ قرار داشتند ، بساک‌های آنها با استفاده از پنس به آرامی و به مدت ۱۸-۱۲ ساعت بر روی یک برگ کاغذ در دمای اتاق (۲۰ درجه سانتیگراد) قرار داده تا مقداری از رطوبت خود را از دست داده ، شکاف بردارند و گرده‌ها آزاد شوند. در ادامه ، گرده‌های آزاد شده ، جمع‌آوری و در محیط کشت محتوی اسید بوریک(۱۰۰ میلی گرم در لیتر)، ساکارز(۱۰ درصد) و آگار(۱ درصد) استفاده شد.

برای کشت گرده و تهیه محیط کشت، ابتدا مقدار مشخصی ساکارز به حجم معینی آب مقطر در داخل یک ارلن مایر اضافه شد و بر روی همزن الکتریکی قرار گرفت . پس از آن، به ترتیب اسیدبوریک و آگار مورد نیاز افزوده و محلول حاصل با آب مقطر به حجم مورد نظر رسانده شد. سپس، محیط های کشت آماده شده به مدت ۱۵ دقیقه داخل اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار بخار ۱/۲ بار استریل گردیدند. پس از خروج محیط‌های کشت از اتوکلاو و در حالی که هنوز به صورت ژله‌ای در نیامده در زیر دستگاه لامینار در داخل پتری‌دیش‌های به قطر ۷/۵ و ارتفاع یک سانتیمتر توزیع و تا زمان کشت دانه‌های گرده، در پلاستیک‌های محافظ غذا نگه‌داری شدند. بعد آن دانه های گرده با استفاده از قلم‌مو، به طور یکنواخت بر روی محیط‌های کشت ژله‌ای شده پخش و درب پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته شدند. سپس، پتری‌دیش‌ها در انکوباتور در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۲ ساعت، پتری‌دیش‌ها ی حاوی دانه های گرده کشت شده برای تعیین درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده در زیر میکروسکوپ نوری مورد مشاهده و یاد داشت برداری قرار گرفت به این ترتیب که در هر پتری‌دیش ۳ میدان دید۷ بطور تصادفی انتخاب و تعداد گرده‌های جوانه زده و تعداد کل دانه‌های گرده آن میدان دید ، شمارش و نسبت بین آنها به درصد تعیین گردید. معیار جوانه‌زنی حالتی بود که طول لوله گرده حداقل برابر با قطر دانه گرده می رسید. داده های حاصل با استفاده ازتجزیه آماری نرم افزار SPS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

## نتایج و بحث

بررسی نتایج تاثیر محلول پاشی با ترکیبات مختلف ودر زمان های مختلف بر جوانه زنی دانه گرده سیب رقم گلاب و برابورن در شرایط درون شیشه ای نشان داد که تاثیرات آنها بر جوانه زنی متفاوت است(شکل ۱) به طوری که بهترین میزان جوانه زنی دانه گرده به میزان ۹۸٪در تیمار شاهد بوده ولی کمترین جوانه زنی دانه گرده آن (۷ درصد)در تیمار محلول پاشی با اسید جبیرلیک با غلظت ۴۰ پی پی ام در زمان ۱۰٪ گلدهی بود (شکل ۱).از طرفی جوانه زنی دانه گرده در دو رقم سیب تحت مطالعه متفاوت بود. به طوری که میزان جوانه زنی در رقم برابورن بیشتر از دلبار استیوال بود(شکل ۲).

[6] Ballon stage
[7] Scop



شکل ۱ جوانه زنی دانه گرده سیب در محیط کشت در اثر تیمار محلول پاشی شاهد

چون طبق گزارش ها قوه نامیه دانه گرده و پارامترهای بیوشیمیایی توانایی جوانه زنی به عنوان یک برآورد اولیه از توانایی جوانه زنی دانه گرده ۲ رقم سیب تجارتی گلدن واستار کریمسون که به ترتیب بخشی خودناسازگار و بطور کامل خودناسازگار می باشند،در شرایط درون شیشه ای توسط کالیزونی وهمکاران(۱۹۷۹) انجام شد ولی نتایج درصد جوانه زنی برای هر دو رقم در محیط کشت متفاوت به دست آمد. از طرفی طبق گزارشات برای تشکیل میوه ، تولید دانه گرده، جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده به داخل خامه در گونه های گیاهی فرایندهای اتفاق می افتد که آگاهی از آنها ضروری هست(رودیش وهمکاران،۱۹۷۷؛هیرو و تانسون، ۱۹۸۰). در این آزمون مشخص گردید که جوانه زنی دانه گرده در اثر تاثیر متقابل نوع رقم سیب و تیمار محلول پاشی متفاوت بود به طوری که بیشترین جوانه زنی دانه گرده در تیمار شاهد و ضعیف ترین جوانه زنی دانه گرده در محلول پاشی با اسید جبیرلیک در زمان ۱۰٪ گل با غلظت ۶۰ پی پی ام به ترتیب ۸۶٪ و ۷٪ مشاهده گردید(شکل ۳). جوانه زنی بیشتر دانه گرده سیب در برخی تیمار های محلول پاشی در مقایسه با سایر تیمار های محلول پاشی احتمالاً به دلیل وجود مواد غذایی و یا فشار اسمزی بوده باشد که اغلب در برخی ترکیبات ایجاد می شود. رشد محدود و یا جوانه زنی کمتر دانه گرده سیب در برخی تیمار های محلول پاشی در مقایسه با برخی تیمار های محلول پاشی ممکن است اثر بازدارنگی تاثیر غلظت زیاد و یا آنتاگونیسمی جذب مواد غذایی توسط دانه گرده بوده باشد. به علاوه گاهی حالت رشد غیر طبیعی دانه های گرده در برخی تیمار های محلول پاشی مشاهد گردید که همچو حالت را بایر وهمکاران(۱۹۹۰) نیز گزارش نموده اند. در این آزمایش جوانه زنی و رشد لوله گرده در محیط کشت حاوی ترکیبات مختلف مشخص گردید که اثرات بازدارنگی روی جوانه زنی گرده در برخی محیط های کشت چشمگیر بود که نتایج مشابهی نیز درگزارش واتر واستورجیون(۱۹۹۰) اشاره شده است. همچنین طبق گزارش آکار و همکاران (۲۰۱۰) جوانه زنی دانه گرده پسته در شرایط درون شیشه ای با افزایش غلظت اسید جیبرلیک اثرات بازدارنده مشاهده شد. دلایل این نوع بازدارندگی جوانه زنی در شرایط درون شیشه ای توسط وانگ و همکاران (۲۰۰۳) تشریح شده است. در این آزمایش اثرات منفی اسید جیبرلیک و هورمون اکسین(توفوردی) در محیط کشت مشاهده گردید که دلایل آن احتمالا به دلیل عدم تعادل هورمون های درونی و بیرونی در محیط کشت دانه گرده بوده باشد به طوری که غلظت های بالا دارای اثرات سمی برای جوانه زنی باشد. نتایج به دست از این پژوهش با گزارش های بولات و همکاران (۱۹۹۹) و آکار و همکاران

(۲۰۱۰) مطابقت دارد که بازدارندگی جوانه زنی دانه گرده در محیط های کشت حاوی ترکیبات مختلف در برخی گونه های بررسی شده گزارش نموده اند. امید می رود نتایج حاصل از این تحقیق مورد استفاده در مدیریت به باغی و به نژادی سیب مورد استفاده قرار گیرد.

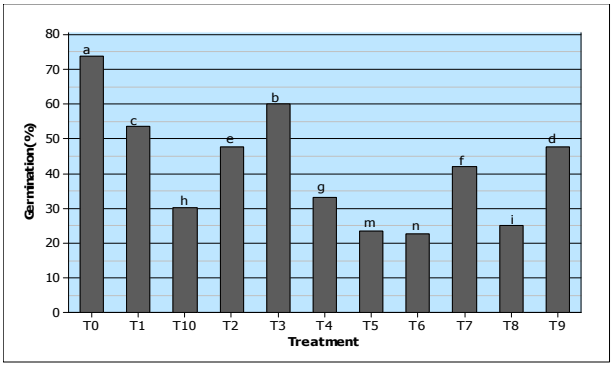



Figure 1 effect of treatment on pollen germination invitro culture. T0=Control; T1=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (10%); T2=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (10%); T3=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (25%); T4=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (25%); T5=Fuliar application of GA3(40PPM)in flowering (10%); T6=Fuliar application of GA3(60PPM)in flowering (10%); T7=Fuliar application of 24D(40PPM)in flowering (10%); T8=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (10%); T9=Fuliar application of 24D (40PPM)in flowering (25%); T10=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (25%)

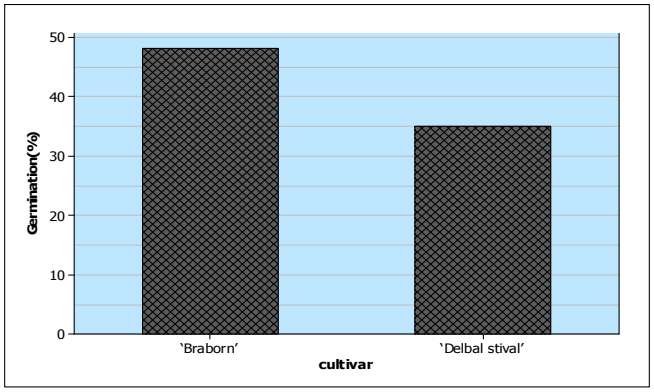



Figure 2 effect of cultivar on pollen germination invitro culture. T0=Control; T1=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (10%); T2=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (10%); T3=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (25%); T4=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (25%); T5=Fuliar application of GA3(40PPM)in flowering (10%); T6=Fuliar application of GA3(60PPM)in flowering (10%); T7=Fuliar application of 24D(40PPM)in flowering (10%); T8=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (10%); T9=Fuliar application of 24D (40PPM)in flowering (25%); T10=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (25%);

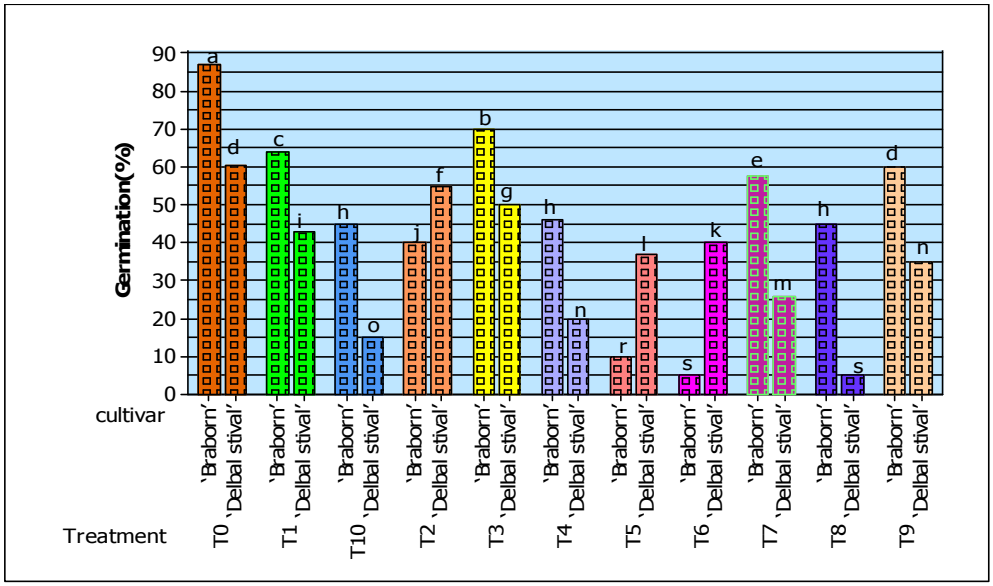



Figure 3 effect of cultivar and treatment interaction on pollen germination invitro culture. T0=Control; T1=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (10%); T2=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (10%); T3=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (25%); T4=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (25%); T5=Fuliar application of

GA3(40PPM)in flowering (10%); T6=Fuliar application of GA3(60PPM)in flowering (10%); T7=Fuliar application of 24D(40PPM)in flowering (10%); T8=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (10%); T9=Fuliar application of 24D (40PPM)in flowering (25%); T10=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (25%)

**منابع مورد استفاده**

ایمانی ،ع.۱۳۸۳ بیولوژی گلدهی درختان میوه . انتشارات وزارت جهاد کشاورزی. ۶۷۰صفحه

Acar, I., Ak, B.E., Sarpkaya, K. 2010. Effects of boron and gibberellic acid on in vitro pollen germination of pistachio (Pistacia vera L.) cultivars. African Journal of Biotechnology. 9(32: 5126-5130.

Byers, R.E., Carbaugh, D.H., Presley, C.N.1990 The influence of bloom thinning and GA3 sprays on flowers bud numbers and distribution in peach trees. Journal of Horticultural Science. 65: 143–150

Costa, G., Vizzotto, G., Malossini, C. Ramina, A. 1995. Biological activity for a new chemical agent for peach flower thinning. Acta Horticulturae 394: 123–128.

Costa, G., Vizzotto, G. 2000.Fruit thinning of peach trees. Plant Growth Regulation. 31: 113–119.

Calzoni; A., Speranza ;A., Bagni, N.1979. In vitro germination of apple pollens. Scientia Horticulturae.10, (1): 49-55.

Herrero, M.P. ; Johnson, R.R. 1980. High temperature stress and pollen viability of maize. Crop Sci. 20, 796–800.

Lichou, J., Jay, M., Gonsolin, L., Du Fretay, G.1996. Armothin: A new chemical agent for peach blossom thinning.Acta Hortic 451: 683–692

Rocsko, J. 2006. Crop load, fruit thinning and their effects on fruit quality of apple. Journal of agriculture sciences, Debrecen. 29-35.

Rudich, J. ; Zamski, E. ; Regev, Y. 1977. Genotypic variation for sensitivity to high temperature in the tomato: Pollination and fruit set. Botanical Gazette. 138:448-452.

Southwick, S.M., Weis, K.G.,Yeager, J.T. 1996. Bloom thinning Loadel cling peach with a surfactant. Journal of America Socity Horticulture Science 121: 334–338

Stopar, M. 2006. Thinning of 'Fuji' apple trees with Ethephon, NAD and BA, Alone and in combination.Journal of Fruit and Ornamental plant Research.1:39-45.

Tromp, J. 2000.Flower-bud formation in pome fruits as affected by fruit thinning. Plant Growth Regulation 31: 27–34,

Wang, Q.L. ; Lu, L.D. ; Wu, X.Q. ; Li, Y.Q. ; Lin, J.X. 2003. Boron influences pollen germination and pollen tube growth in Picea meyeri. Tree Physiology. 23, 345–351.

Watters, B.S. , Sturgeon,S.R. 1990. The toxicity of some foliar nutrients and fungicides to apple pollen cv. Golden Delicious. Tests of Agrochemicals and Cultivars 11 - Ann. Appl. Biol. 116 (Supplement):70-71.

# The influence of thinnings on apple pollen germination capacity in vitro culture

**Vahid Bisetoni [1] and Ali Imani[*1, 2]**

1Departmentof Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Abhar Azad University, Abhar, Iran

2*Corresponding author: Department of Horticultural Science, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Iran

E-mail: Imani_a45@yahoo.com

3Department of genomics, Agricultural Biotechnology Research Institute

**Abstract**

Chemical thinnings help to reduce the crop load which in turn promotes increased fruit size, reduced biennial bearing and increased fruit yield. For that reason, examination to with 10 thinning treatment sprays on pollen germination invitro culture. T0=Control; T1=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (10%); T2=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (10%); T3=Fuliar application of nitrogen(10/1000)in flowering (25%); T4=Fuliar application of nitrogen(15/1000)in flowering (25%); T5=Fuliar application of GA3(40PPM)in flowering (10%); T6=Fuliar application of GA3(60PPM)in flowering (10%); T7=Fuliar application of 24D(40PPM)in flowering (10%); T8=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (10%); T9=Fuliar application of 24D (40PPM)in flowering (25%); T10=Fuliar application of 24D (60PPM)in flowering (25%) in factoriel design as randomized complete block with 3 replications has been done. The results show that the most germination (97%) took place in the medium of T0=Control and the least one (7%) happened in T5=Fuliar application of GA3(40PPM)in flowering (10%).

Keywords: apple, in vitro, pollen germination, thinnings