شناسایی ژنوتیپ‌های جدید خودسازگار بادام با روش میکروسکوب فلورسنت

اصغر استاجی [۱*]، علی عبادی [۲]، اکبر قربانی [۳]، رقیه اله بخش [۴]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران. ۲- استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران. ۳- دانشجوی دکتری دانشگاه آتا ترک ترکیه. ۴- دانشجوی سابق کارشناسی دانشگاه محقق اردبیلی.

*E-mail: a_estaji@ut.ac.ir

چکیده

بادام (Prunus dulcis L.) از گونه‌های اقتصادی جنس پرونوس و از خانواده رزاسه است. قسمت تجاری میوه بادام بذر خوراکی آن(مغز) می‌باشد، بنابراین برای کشت وسیع و تجاری بادام استفاده از ارقام خودسازگار و یا کشت حداقل دو رقم سازگار با هم ضروری است. اکثر ارقام تجاری بادام، خودناسازگار و برخی نیز دگرناسازگار هستند. خودناسازگاری یکی از مشکلات مهم و محدودکننده در میزان تشکیل میوه و محصول دهی بادام می‌باشد. بنابراین شناسایی ارقام خودسازگار بادام اهمیت ویژه‌ای دارد. در این مطالعه با استفاده از روش میکروسکوب فلورسنت ۷۸ ژنوتیپ بادام که حاصل تلاقی ژنوتیپ‌های خودناسازگار داخلی و رقم خودسازگار تونو بود مورد ارزیابی قرار گرفتند و در نهایت ۱۷ ژنوتیپ خودسازگار، ۷ ژنوتیپ مشکوک و بقیه خودناسازگار تشخیص داده شدند. ژنوتیپ شماره ۵ ژنوتیپی خودسازگار با متوسط وزن میوه بالا بود. ژنوتیپ شماره ۲ بیشترین متوسط وزن میوه و مغز را در بین تمام ژنوتیپ های مورد بررسی داشت و در مقایسه با رقم نان پاریل نیزمتوسط وزن میوه بالاتری داشت اما متوسط وزن مغز آن کمتر و پوسته چوبی آن سخت تر بود.

واژه های کلیدی: بادام، خودسازگاری، میکروسکوب فلورسنت، صفات کمی وکیفی

مقدمه

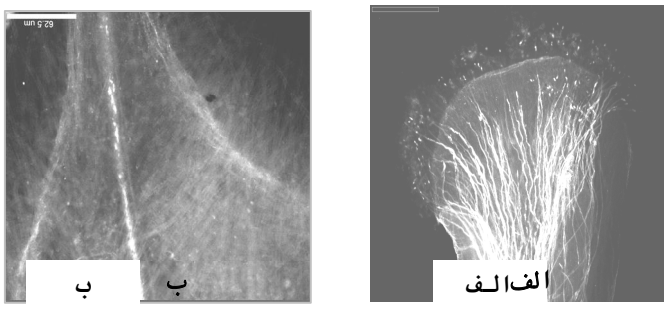
اکثر ارقام بادام [Prunus amygdalus. Batschsyn. Prunus dulcis (Mill) D.A Webb] خودناسازگار هستند. خودناسازگاری گامتوفیتی مکانیزمی شایع در اکثر گیاهان خودناسازگار می‌باشد. بیشتر گونه‌های خانواده رزاسه دارای ناسازگاری گامتوفیتی هستند. این نوع ناسازگاری توسط ژنوتیپ هاپلوئید دانه گرده و دیپلوئید مادگی تعیین می‌شود. در این سیستم خودناسازگاری، RNA موجود در لوله گرده که دارای آلل ناسازگاری (S) مشترک با ژنوتیپ ناسازگاری ژنوتیپ دیپلوئید مادگی است، توسط آنزیم ریبونوکلئاز موجود در خامه، هضم و متلاشی شده و سبب متوقف شدن رشد لوله گرده در خامه می گردد (Mc Clure and Franklin, 2000). انجام گرده افشانی و تلقیح برای تولید محصول در بادام ضروری است اما اکثر ارقام تجاری بادام، خودناسازگار و برخی نیز دگرناسازگار هستند. در حال حاضر تعداد محدودی رقم خودسازگار مناسب وجود دارند(Ossama et al,. 2010). ارتگا و همکاران (۲۰۰۶) دو رقم Genco و Tuono را خودسازگار معرفی کردند (Ortega et al., 2006). یکی از روش‌های بررسی خودسازگاری در بادام بررسی رشد لوله گرده با میکروسکوب فلورسنت است (Felipe et al,. 1977). Ortega et al., (۲۰۰۶) برای بررسی خودسازگاری ژنوتیپ‌های A1473 (فراگنس۱ × جنکو۲)، A2198 (تونو۳ × جنکو)، A2416 (جنکو × تونو) دو شاخه درخت را در مرحله بالن (Felipe et al,. 1977) کیسه گذاری کردند و پس از باز شدن گل‌ها عمل خودگرده‌افشانی گل-های داخل کیسه ها را انجام دادند و سپس به فواصل زمانی۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از گرده‌افشانی از هر شاخه کیسه‌گذاری شده تعداد ۱۰ نمونه مادگی تهیه و درون محلول فیکساتیو(Ortega , 2006) قراردادند. و با میکروسکوب فلورسنت مسیر رشد لوله گرده را مورد بررسی قرار دادند. بر طبق پیشنهاد آلونسو و همکاران (۲۰۰۵) اگر بیشتر از ۷۵ درصد مادگی‌ها دارای رشد لوله گرده

1. Ferragnes
2. Genco
3. Tuono

در انتهای خامه باشند به عنوان کاملاً خودسازگار، بین ۵۰٪ تا ۷۵٪ خودسازگار، بین ۲۵ تا ۵۰ درصد به عنوان فنوتیپ‌های مشکوک و کمتر از ۲۵ درصد خودناسازگار خواهند بود. به منظور تولید میوه در سطح تجاری در ارقام بادام نیاز به گرده‌افشانی کافی و باروری تخمک است. امروزه مشکلات مدیریتی مربوط به ضرورت وجود دگرگرده‌افشانی و تولید میوه کافی از طریق توسعه ارقام خود سازگار جدید در برنامه‌های اصلاحی حل شده است، به همین دلیل خودسازگاری یکی از مهمترین اهداف در برنامه‌های اصلاحی در بادام می‌باشد (Kester et al., 1997).

مواد روش ها

در این آزمایش ابتدا رشد لوله گرده در ۷۸ ژنوتیپ بادام با میکروسکوب فلوروسنت بررسی شد، که در نهایت ۱۷ ژنوتیپ خودسازگار و ۷ ژنوتیپ مشکوک و بقیه به عنوان ژنوتیپ‌های خودناسازگار شناسایی شدند (جدول ۱). مطالعه رشد لوله گرده با میکروسکوپ فلوروسنت در آزمایشگاه گروه زیست شناسی پردیس علوم دانشگاه مرکزی تهران انجام گرفت. در اواخر اسفند سال ۱۳۸۹ و در اوایل فروردین ۱۳۹۰ قبل از باز شدن گل‌ها و در مرحله بالن (پدیدار شدن نوک گلبرگ‌ها) تعداد دو شاخه از هر ژنوتیپ کیسه گذاری شده و پس از باز شدن گل‌ها با قلم مو عمل خودگرده افشانی انجام گرفت. سپس در زمان‌های ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی ۱۰عدد گل از هر شاخه جدا و مادگی آن‌ها در محلول فیکساتیو(Ortega، 2006) قرار گرفت و برای انجام بقیه مراحل به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت آماده‌سازی، نمونه‌ها در محلول سولفات سدیم ۵٪ (Ortega، 2006) قرار گرفتند و اتوکلاو شدند. نمونه‌ها بعد از اتوکلاو شدن در محلول رنگ‌آمیزی آنیلین بلو قرار گرفته و سپس روی لام و زیر لامل له شدند و سپس با میکروسکوب فلورسنت مسیر رشد لوله‌های گرده بررسی شد (شکل۱) و نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.



شکل۱- الف: جوانه زنی لوله گرده بر روی کلاله و در ابتدای خامه ، ب: مسیر رشد لوله گرده در انتهای خام

جدول ۱- بررسی تعداد لوله‌های گرده رسیده به انتهای خامه در ۲۴ ژنوتیپ مشکوک و خودسازگار بادام

ژنوتیپ ها	تعداد مادگی مورد بررسی	تعدادخامه‌های دارای لوله گرده در وسط خامه	تعدادخامه‌های دارای لوله گرده در انتهای خامه	ژنوتیپ‌های مشکوک(بین۲۵٪تا ۵۰٪)	ژنوتیپ‌های خودسازگار(بین05٪تا۷۵٪)	ژنوتیپ‌های کاملاً خودسازگار(بیشتراز ۷۵٪)
G1	۱۰	۶	۳	+		
G2	۱۰	۷	۴	+		
G3	۱۰	۸	۵		+	
G4	۱۰	۹	۸			+
G5	۱۰	۸	۶		+	
G6	۱۰	۷	۶		+	
G7	۱۰	۷	۴	+		
G8	۱۰	۷	۶		+	
G9	۱۰	۹	۸			+
G10	۱۰	۶	۵		+	
G11	۱۰	۶	۵		+	
G12	۱۰	۵	۴	+		
G13	۱۰	۱۰	۹			+
G14	۱۰	۸	۷		+	
G15	۱۰	۶	۳	+		
G16	۱۰	۸	۵		+	
G17	۱۰	۷	۵		+	
G18	۱۰	۸	۵		+	
G19	۱۰	۸	۷			+
G20	۱۰	۷	۵		+	
G21	۱۰	۶	۳	+		
G22	۱۰	۸	۷		+	
G23	۱۰	۷	۵		+	
G24	۱۰	۶	۳	+		

نتیجه‌گیری کلی

همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود ژنوتیپ‌های شماره ۴، ۹، ۱۳ و ۱۹ ژنوتیپ‌های بسیار خودسازگاری هستند. این ژنوتیپ‌ها با روش PCR نیز مورد بررسی قرار گرفتند و آلل خودسازگار Sf درآنها شناسایی شد. هم‌چنین با روش کیسه گذاری

در مزرعه برای شمارش تعداد میوه‌های حاصل از خودگشنی، نیز مورد بررسی قرار گرفتند و درصد بالایی از خودسازگاری را نشان دادند. ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۵، ۶، ۸، ۱۱،۱۰، ۱۴، ۱۶، ۱۷، ۱۸،۲۰، ۲۳ و ۲۴ ژنوتیپ‌های خودسازگار بودند که این گروه در ابتدا با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند و دارای آلل خودسازگار Sf بودند. و سپس با روش کیسه‌گذاری در مزرعه خودسازگاری آنها تایید شد. ولی این گروه تعداد میوه‌های حاصل از خودگشنی کمتری نسبت به سه ژنوتیپ ابتدایی داشتند. ژنوتیپ شماره ۹ در ابتدا ژنوتیپ بسیار ایده‌آلی به نظر می‌رسید ولی در سال دوم (۱۳۹۰) دچار بیماری گموز شد که احتمال از بین رفتن آن بالا می‌باشد. هنوز مشخص نیست که این ژنوتیپ به علت خودسازگاری حساس به این بیماری شده یا بطور تصادفی مبتلا به این بیماری شده است. ژنوتیپ‌های شماره ۴ و ۱۳ مناسب می‌باشند و لازم است در اقدامات بعدی از نظر مقاومت به بیماری‌ها و آفات مورد ارزیابی قرار گیرند تا در صورت مقاومت مناسب به عنوان رقم خودسازگار معرفی شوند. ژنوتیپ شماره ۴ از لحاظ تاریخ گلدهی همانند رقم نان‌پاریل متوسط می‌باشد ولی ژنوتیپ شماره ۱۳ ژنوتیپی دیرگل می‌باشد بنابراین علاوه بر خودسازگاری دارای صفت مطلوب دیرگلی نیز می‌باشد.

جدول ۲- ژنوتیپ‌های خودسازگار برتر در میان ۱۷ ژنوتیپ مورد بررسی بادام

شماره ژنوتیپ	متوسط وزن میوه(گرم)	متوسط وزن مغز(گرم)	طول مغز(میلی-متر)	سختی پوسته چوبی	اندازه هسته	طعم و مزه مغز	میزان خودسازگاری
۴	۲/۱	۰/۹	۱۸	نیمه سخت	بزرگ	شیرین	خیلی خودسازگار
۹	۳/۳	۰/۹	۲۶	نیمه سخت	متوسط	شیرین	خیلی خودسازگار
۱۳	۱/۷	۰/۹	۲۶	خیلی سخت	متوسط	شیرین	خیلی خودسازگار
۲	۴/۶	۱/۰	۲۳	خیلی سخت	متوسط	شیرین	مشکوک
۵	۴/۳	۰/۹	۲۱	خیلی سخت	متوسط	تلخ	خودسازگار
نان پاریل	۲/۳	۱/۴	۲۳	نازک	بزرگ	شیرین	خودناسازگار

Reference

Felipe, A. 1977. Almendro. Estados fenologicos. Inf. Tecn. Econ. Agrar. 27: 8–9.

Kester, D. and Bradley, M. 1977. Effect of temperature and genotype on pollen tube growth in some self-compatible and self-incompatible almond cultivars. J. A. Soc. Hort. Sci. 101, 490-493.

Mc Cubbin, A. and Franklin, T. 2000. Molcular recognition and respone in pollen and pistal. Acta Hort. 645: 23–60.

Ortega E, Martínez-García P, Dicenta F, (2006). Influence of self-pollination in fruit quality of autogamous almonds. In: Scientia Horticulturae, 109, p. 293-296.

Ossama, K., Alanco, M. and margarida, M. 2010. Molcular and physiological identification of new s-allels associated with self-(in)compatibility in local Spanish almond cultivars, 230,442-37.

Discrimination of self- compatible almond genotypes by fluorescence microscopy and evolution of their fruit and nut

***Asghar Estaji[1], Ali Ebadi [2], Roghaie Allahbakhsh, Davod khoshbakht [1]**

1M. Sc. Student of breeding and biotechnology horticulture crop, Department of Horticulture, Tehran University

2 Prof., Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Tehran University, Karaj,

*Corresponding author, E-mail: a_estaji@ut.ac.ir

Abstract

Almond (Prunus dulcis [Webb] D.A. Mill) is an economically important species of genus Prunus (Rosaceae, subfamily Prunoideae). The commercial edible part of almond fruit is kernel. Therefore, for establishment of commercial orchards, it is necessary to select and grow at least two cultivars that are cross compatible with each other. However, most almond cultivars are self or even cross-incompatible. Self-incompatibility is one of the most important limitative problems for fruit set and cropping in almond tree. Therefore it is necessary, to breed self-compatible cultivars. In this study, ۷۸ almond genotypes obtained from crossing between some superior self-incompatible local genotypes and 'tuono' (self-compatible cultivar) were analyzed with fluorescence microscope method. Results showed that 18 genotypes were Self-compatible, seven genotypes were questionable and others were recognized as self-incompatible. Genotype 5 was self-compatible with high average nut weight. Genotype 2 had highest average nut and kernel weight among all examined genotypes which is Comparable with 'Nonpareil' it had more nut weight, but low kernel weight and more shell thickness in comparison with 'Nonpareil'.

Keywords: almond, quantitative and qualitative traits, Factor analysis, Cluster analysis, correlation.