مطالعه وضعیت خود(نا)سازگاری در تعدادی از ژنوتیپ های امیدبخش زردآلو (*Prunus armeniaca* L.) در باغ و آزمایشگاه

سارا قره بیکلو [۱]، رحیم قره شیخ بیات [۲*]، داریوش داوودی [۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد محصولات باغی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار. ۲- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر،کرج. ۳- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج.

* نویسنده مسئول

چکیده

زردآلو(Prunus armeniaca L.)،از جایگاه خاصی در صنعت میوه کاری ایران برخوردار است. از مشکلات اساسی در تولید زردآلو می توان به بی نظمی باردهی و عملکرد پایین آن اشاره کرد که از جمله علل آن خودناسازگاری و عقیمی گلهای آن است. با توجه به اینکه ارقام خودناسازگار برای تولید مطلوب نیاز به دگر گرده افشانی دارند، عدم اطلاع از این موضوع و کشت باغ از یک رقم باعث میوه دهی ضعیف می شود. پژوهش حاضر به منظور بررسی و تعیین آللهای ناسازگاری بر روی ۵ ژنوتیپ برتر زردآلو و یک رقم خارجی Canino به عنوان شاهد موجود در ایستگاه تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد. در این تحقیق وضعیت جوانه زنی دانه گرده ، فروت ست(Fruit set) همچنین مطالعه میکروسکوپی رشد لوله گرده صورت گرفت. نتایج فروت ست در باغ نشان داد که همه ی ژنوتیپ های مورد مطالعه خودناسازگارهستند. نتایج در مطالعه تعقیب میکروسکوپی لوله گرده نشان داد که کاهش مورد ملاحظه در تعداد لوله گرده در بخشهای پایینی خامه در طی رشد اتفاق می افتد. با توجه به وجود و عدم وجود لوله گرده در تخمدان در صورت استفاده از گرده خودی خود سازگاری در رقم Canino و ژنوتیپ ۱۰۷۵۷۲ و همچنین خودناسازگاری در ژنوتیپ های ۱۰۷۵۴۸،۱۰۷۵۵۸،۱۰۷۵۶۳، ۱۰۷۵۰۲ گزارش می شود.

واژه های کلیدی:زردآلو،خودناسازگاری، تعقیب رشد لوله گرده، جوانه زنی دانه گرده.

Self-(in)compatibility status of some promising apricot(Prunus armeniaca L.)genotypes evaluated by fruit set tests and pollen tube growth observation.

Sara Gharebeikloo [1], Rahim Gharesheikhbayat [2*] and Darioush Davoodi [3].

Department of Horticultural Science, Garmsar Branch, Azad Univ. 2- Seed and Plant Improvement Institute, Karaj. 3- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj.

*Corresponding author

Abstract

Apricot production in Iran fruit sector has high value. Low yield/irregular bearing caused by self-incompatibility and flower sterility is one of serious problems in apricot cultivation. The self-incompatible cultivars need pollinizers to produce fruits, so from this point of view it is necessary to know the cultivars well before establishing an orchard or programming hybridization projects. In this research work to evaluate the status of fertility of five promising genotypes belong to Seed and Plant Improvement Institute (SPII), fruit set percentage after controlled self-pollination was studied and pollen tubes growth was observed by fluorescent microscope in hand self- pollinated styles after 96h from pollination in cut branches containing at least twenty five safe flowers. Canino, the Spanish semi-auto fertile apricot was used as control during experimens. The results in orchard part experiments showed that all genotypes can be considered as self-incompatible, the common trait in Irano-Caucasian apricots, which was confirmed by laboraty results, although the genotype 107572 showed pollen tubes reaching the ovary.

مقدمه

مهم ترین هدف برای تولید کنندگان میوه ، دستیابی به عملکرد بالای محصول می باشد. میزان نهایی تولید محصول در درختان میوه ، نتیجه ی بر همکنش تعدادی از عوامل است. یکی از این عوامل مهم ، میوه نشینی است که معمولا به موفقیت فرآیند تولید مثل بستگی دارد. برای انجام یک فرآیند تولید مثلی موفق ، باید دانه گرده کافی به سطح کلاله منتقل شود و لوله های گرده تولید شده بتوانند بطور کامل در مادگی رشد کرده و تخمکها را تلقیح نمایند. هر گونه تغییر در هر یک از این موارد ، می تواند تولید میوه را دچار اختلال

نماید(Sanzol et al., 2001) .خود نا سازگاری شدید زردآلو ، موجب بروز مشکلاتی نظیر کاهش و بی نظمی تشکیل میوه و کاهش عملکرد به دلیل فقدان دانه گرده سازگار و کافی و در نهایت حذف رقم از باغهای مدرن(کشت تک واریته ای ارقام خود ناسازگار) می گردد. سرعت جوانه زنی و رشد لوله گرده یکی از جنبه های مهم می باشد که از اهمیت زیادی در لقاح و تشکیل میوه دارد . بطوری که سرعتهای بیش از حد آهسته می تواند موجب نقص یا عدم تشکیل میوه گردد، زیرا تخمک قبل از رسیدن لوله گرده به تخمدان از بین می رود. پایین بودن درصد جوانه زنی گرده به عنوان یکی از دلایل عملکرد ضعیف در زردآلو گزارش شده است. اطمینان از وجود دانه گرده سالم ، زنده و دارای سرعت جوانه زنی بالا و نمو لوله گرده مناسب ، برای موفقیت در دورگه گیری کنترل شده، اهمیت وافری دارد(نجاتیان ۱۳۸۷). زردآلو دارای مکانیزم ناسازگاری از نوع گامتوفیتیک است. در سیستم ناسازگاری گامتوفیتیک ، اگر هر دو آلل در مکان S والد پدری مشابه با آلل های والد مادری باشند، رشد لوله گرده متوقف شده و به آن ناسازگاری کامل می گویند. اما اگر هیچ کدام از آلل های S دانه گرده با مادگی یکسان نباشند، لوله های گرده به رشد خود ادامه داده و به آن سازگاری کامل می گویند. در حالتی که ژنوتیپ یکی از آلل ها در گرده با یکی از آنها در مادگی مشابه باشد امکان ادامه رشد و نمو این دسته از گروه ها در مسیر مادگی وجود ندارد و به آن ناسازگاری ناقص می گویند. در این حالت با توجه به اینکه یکی از آلل های ناسازگاری والد پدری با آلل های ناسازگاری والد مادری نا مشابه است ، درصدی تشکیل میوه وجود خواهد داشت. در بادام در صورت حضور ناسازگاری ناقص تشکیل میوه بین ۱۰-۵ درصد می باشد(Jie et al., 2005).

مواد و روش ها

دراین پژوهش جهت تهیه دانه گرده ، شاخه های حاوی جوانه های گل پنج ژنوتیپ باشماره های ۱۰۷۵۵۸، ۱۰۷۵۴۸،۱۰۷۵۰۲، ۱۰۷۵۶۳،۱۰۷۵۷۲ و یک رقم اسپانیائی به نامCanino (شاهد)، تهیه شد و در محیطی عاری از هر گونه حشره و باد بطور جداگانه در داخل آب و ساکارز ۵ درصد در شرایط معمولی اتاق قرار داده شدند تا گلهای آنها باز شود. قبل از باز شدن گلها ، گلبرگ ها توسط پنس حذف و بساکها از میله ی پرچم جدا شدند و به داخل پتری دیش انتقال داده شدند. دانه ی گرده پس از آزاد شدن به لوله های شیشه ای درب دار کوچک منتقل و تا زمان استفاده در داخل یخچال در دمای ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. جهت تعیین پتانسیل جوانه زنی دانه گرده از محیط کشت حاوی ۱۵٪ ساکارز و ۱,۲٪ آگار استفاده شد . دانه های گرده با استفاده از قلم مو بطور یکنواخت در سطح محیط کشت پخش شدند. پتری دیش ها در داخل ژرمیناتور در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد و در شرایط رطوبت نسبی ۷۵ درصد قرار داده شدند. ۲۴ ساعت بعد ، میزان جوانه زنی با میکروسکوپ نوری برآورد شد. تعداد دانه گرده های موجود و دانه های جوانه زده شده در هر میدان دید شمارش شده و در نهایت درصد جوانه زنی در آن میدان دید محاسبه شد. به منظور اجتناب از اثر توده ای (تحریک جوانه زنی و رشد لوله گرده هنگامیکه تعداد زیادی دانه ی گرده در واحد سطح موجود باشد)،شمارش تعداد گرده در میدان هایی از هر پتری دیش صورت گرفت که توزیع دانه گرده تا حد امکان بصورت یکنواخت انجام شده باشد(Ruiz et al. , 2008). به منظور انجام گرده افشانی های طراحی شده دو روش یعنی انجام تلاقی ها در باغ و استفاده از شاخه بریده هر دو انجام شد. در مرحله بالونی گل ها به درختان مورد مطالعه مراجعه و از هر کدام چهار شاخه در جهات مختلف انتخاب شد و به وسیله کیسه های ویژه ایزوله شدند. شاخه های انتخاب تا زمان تمام گل به صورت ایزوله نگهداری شدند و سپس به کمک دانه گردی خودی گرده افشانی شدند و مجداً با کیسه پوشانده شدند. تعدادی از شاخه ها نیز به عنوان شاهد به صورت گرده افشانی آزاد مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از هشت هفته میزان تشکیل میوه در این شاخه ها یادداشت گردید(جدول۱). در روش دوم به منظور مطالعات آزمایشگاهی، شاخه هائی از هر کدام از ژنوتیپ ها با تعداد کافی جوانه گل (حدود۵۰ تا۶۰ گل) در مرحله بادکنکی از درختان ارقام مورد آزمایش برداشت

شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه ، ته شاخه ها درظرف آب محتوی ساکارز ۵٪ در داخل اتاقک رشد قرار داده شدند. طی ۷۲ تا ۹۶ ساعت بعد گلبرگ ها شروع به ریزش کردند. تقریبا از هر شاخه(رقم) ۱۰ گل در زمان ۹۶ ساعت پس از گرده افشانی برداشت شدند و بعد از اینکه تمام گلبرگها ریختند با تیغ از زیر تخمدان برش داده و مادگی ها در محلول فیکساتورFAA حاوی ۹۰٪ اتانول ۷۰٪ ، ۵٪ فرمالدئید ۴۰٪ و ۵٪ اسید استیک قرار داده شدند. نمونه ها تا زمان انجام مطالعات میکروسکوپی در یخچال معمولی(۴°C) نگهداری شدند. بعد از شستشوی نمونه ها با آب مقطر و نرم کردن آن ها در محلول سولفیت سدیم ۵٪ در اتوکلاو و رنگ آمیزی با آنیلین بلو، روند رشد لوله گرده در هر تلاقی توسط میکروسکوپ فلورسنت مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد مادگی های دارای لوله ی گرده حاصل از خودگرده افشانی در قسمت انتهایی خامه در هر ژنوتیپ ثبت شد. این اطلاعات به منظور تعیین وضعیت سازگاری ژنوتیپ های مورد نظر به کار رفت. به این ترتیب رشد لوله گرده و میزان نفوذ آن به درون خامه و تخمدان مشاهده شد. رسیدن لوله گرده به تخمدان دلیل بر خودسازگاری و عدم رسیدن آن دلیل بر خود ناسازگاری قلمداد می شود. تعداد دانه های گرده جوانه زده در سطح کلاله و تعداد لوله گرده در یک سوم بالایی و پایینی خامه و نیز درون تخمدان شمارش گردید. پس از شمارش تعداد لوله های گرده در هر یک از بخش های فوق درصد لوله ی گرده موجود در هر یک از بخشها نسبت به تعداد دانه گرده جوانه زده در سطح کلاله محاسبه شد.

نتایج و بحث

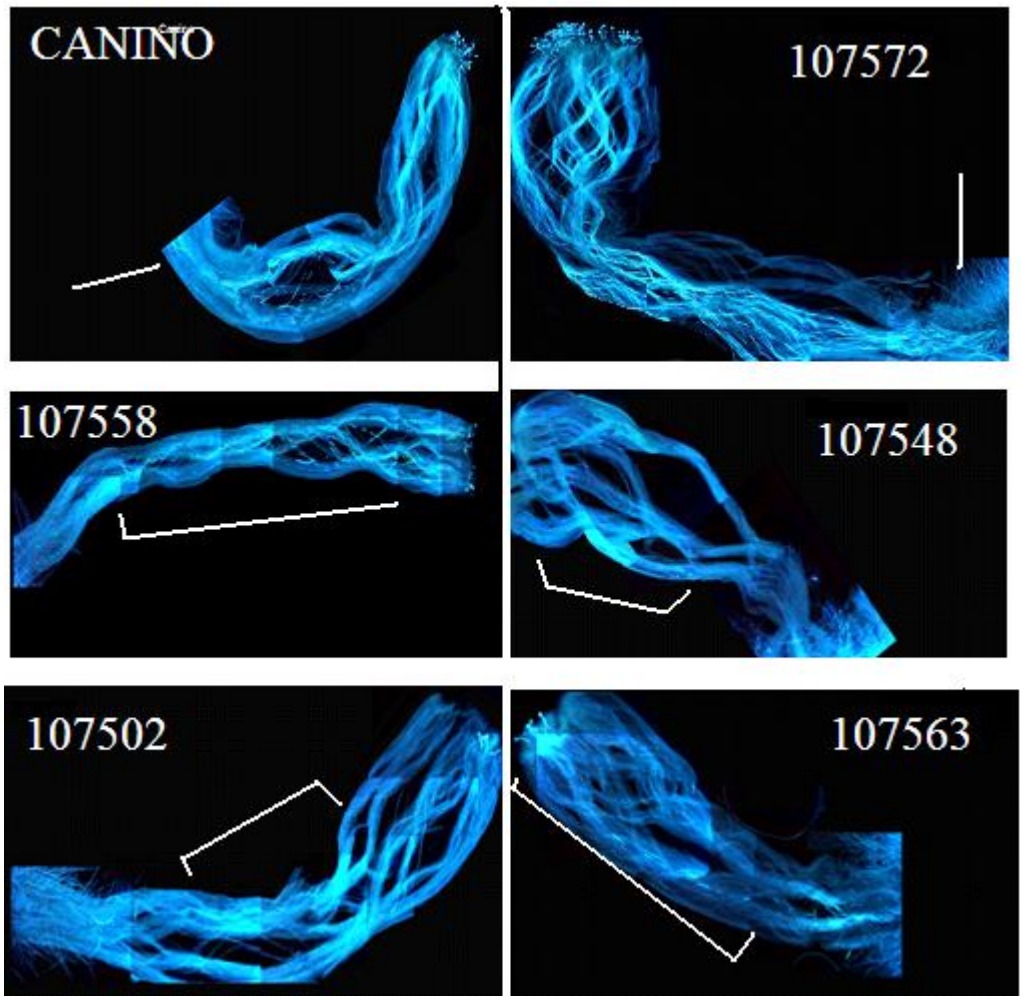
بررسی های مربوط به درصد جوانه زنی دانه گرده ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که درصد جوانه زنی در بین ارقام و ژنوتیپ‌ها متفاوت می‌باشد. بیشترین درصد جوانه زنی دانه گرده مربوط به ژنوتیپ ۱۰۷۵۷۲ (با میانگین جوانه زنی ۶۶/۴ درصد) و کمترین مقدار مربوط به ژنوتیپ ۱۰۷۵۴۸ (با میانگین جوانه زنی ۱۷/۱ درصد) بود. نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج سایر محققان نیز مطابقت دارد به طوری که در بررسی انجام شده Egea وهمکاران (۱۹۹۲) جوانه زنی لوله گرده ارقام مختلف زردآلودربین ۱۶/۱ تا ۵۰/۹ درصد به دست آمد. Suranyi و همکاران (۱۹۹۵) درصد جوانه زنی ارقام مختلف زردآلو را ۱۲/۹تا ۷۵/۵ درصد گزارش نمودند. Hajilou و همکاران (2006) میانگین درصد جوانه زنی دانه گرده در زردآلو را ۳۹/۹ تا۵۴/۸ گزارش نمودند. درصد تشکیل میوه در ژنوتیپ ۱۰۷۵۴۸ در حالت خود گرده افشانی (ایزوله شده) ۱/۷٪ و در حالت گرده افشانی آزاد ۷/۳٪ بوده است. و در ژنوتیپ Canino در حالت خودگرده افشانی ۰٪ و در حالت گرده افشانی آزاد ۵/۳٪ بوده است.در ژنوتیپ ۱۰۷۵۵۸ در حالت خودگرده افشانی ۰٪ و در حالت گرده افشانی آزاد ۲/۲٪ بوده است. در ژنوتیپ ۱۰۷۵۷۲ در حالت خودگرده افشانی ۱/۴٪ و در حالت گرده افشانی آزاد ۷/۲٪ بوده است. در ژنوتیپ ۱۰۷۵۰۲ در حالت خودگرده افشانی ۲٪ و در حالت گرده افشانی آزاد ۱/۹٪ بوده است . در ژنوتیپ ۱۰۷۵۶۳ در حالت خودگرده افشانی ۱/۵٪ و در حالت گرده افشانی آزاد ۱۰/۷٪ بوده است .بنا بر گزارش نکونام و همکاران (1388) چهار رقم زردآلو به نام های نصیری، شاهرودی، نوری و جهانگیری که بصورت انجام تلاقی های کنترل شده با دانه گرده خودی گرده افشانی شدند، همگی خوداناسازگار تشخیص داده شدند. درجه بیان خوداناسازگاری می تواند بوسیله ی میزان طویل شدن رشد لوله ی گرده در داخل بافت خامه تخمین زده شود و رشد لوله ی گرده بوسیله ی عوامل محیطی شامل دما و فاکتورهای فیزیولوژیکی و تغذیه ای تحت تاثیر قرار می گیرد(Arzani et al., 2005). با توجه به وجود خود ناسازگاری دربیشتر ارقام زردآلو، برای تولید میوه با کمیت و کیفیت مناسب کشت ۱ یا ۲ رقم گرده دهنده درباغ به همراه رقم اصلی ضروری است. ۱۰-۲۰ درصد درختان باغ می بایستی از ارقام گرده کشت شوند لازم به ذکر است درختان گرده دهنده علاوه برسازگاری، از نظر گرده افشانی نیز باید با رقم اصلی همپوشانی داشته باشند.

جدول ۱- نتیجه نهایی درصد تشکیل میوه

ردیف	ژنوتیپ	درصد نهائی فروت ست	تعداد شاهددر آخرین تاریخ شمارش	درصد فروت ست شاهد در گرده افشانی آزاد	تفسیر	توضیح
1	Canino	٪0	8	٪5/3	خودناسازگار	پس از 8 هفته
2	107502	٪2	3	٪1/9	خودناسازگار	پس از 8 هفته
3	107572	٪1/4	19	٪7/2	خودناسازگار	پس از 8 هفته
4	107563	٪1/51	19	٪10/7	خودناسازگار	پس از 8 هفته
5	107558	٪0	9	٪2/2	خودناسازگار	پس از 8 هفته
6	107548	٪1/7	19	٪7/3	خودناسازگار	پس از 8 هفته

مطالعات میکروسکوپی چگونگی تغییرات در نحوه ی رشد لوله گرده را نشان داد. در ۶ ژنوتیپ مورد بررسی (Canino،۱۰۷۵۶۳،۱۰۷۵۴۸،۱۰۷۵۵۸،۱۰۷۵۷۲،۱۰۷۵۰۲)

برطبق پیشنهاد Alonso و همکاران (2005) ژنوتیپ هایی که بیش از ۷۵ درصد از مادگی های آنها دارای لوله گرده در قسمت انتهایی خامه باشند به عنوان خیلی خودسازگار ، ژنوتیپ هایی که ۵۰-۷۵ درصد از مادگی های آنها دارای لوله گرده در قسمت انتهایی خامه باشند به عنوان خود سازگار ، ژنوتیپ هایی که ۲۵-۵۰ درصد از مادگی های آنها دارای لوله گرده در قسمت انتهایی خامه باشند به عنوان مشکوک و ژنوتیپ هایی که کمتر از ۲۵ درصد از مادگی های آنها دارای لوله گرده در قسمت انتهایی خامه باشند به عنوان خودناسازگار معرفی می شوند. ژنوتیپ های بدون لوله گرده ، کمتر از یک لوله گرده ، بین ۱ تا ۳ لوله گرده و بیش از ۳ لوله گرده در قسمت انتهایی خامه به ترتیب به عنوان خودناسازگار، مشکوک ، خودسازگار و کاملاً خودسازگار محسوب می شوند. در مطالعه لوله گرده با توجه به اینکه در تمامی ترکیبات جوانه زنی در سطح کلاله به نحو مطلوبی صورت گرفته بود، رشد لوله گرده در تخمدان دلیل بر خود سازگاری و توقف رشد لوله گرده در بخش های پایینی خامه و عدم نفوذ آن به درون تخمدان به دلیل خودناسازگاری ارقام مذکور است. مطالعات نشان می دهد که از بین ۵۰ تا ۶۰ لوله گرده در حال رشد در بخشهای بالایی خامه فقط ۵ تا ۱۰ لوله گرده وارد تخمک شده و عمل تلقیح را انجام میدهد(Stosser et al., 1996). با ردیابی نفوذ لوله گرده درتخمدان ژنوتیپهای ۱۰۷۵۷۲، Canino مشاهده شد که نتایج حاصل از این تحقیق در مورد خودسازگاری به دلیل رسیدن لوله گرده به درون تخمدان در شرایط استفاده از گرده خودی بود. نتایج مطالعه میکروسکوپی رشد لوله گرده درون خامه نشان داده است وجود حداقل یک لوله گرده رشد کرده درون تخمدان به منزله ی سازگار بودن تلاقی ضروری است. بطور کلی بررسی رشد لوله ی گرده در طول خامه نشان داد که گرده ها زنده و سالم بودند و در اغلب ارقام مورد مطالعه شروع رشد لوله گرده در خامه پس از گرده افشانی آغاز شد. توقف رشد لوله گرده در اغلب زنوتیپ ها در یک سوم میانی خامه مشاهده شد. به استثنای رقم Canino و ژنوتیپ ۱۰۷۵۷۲ که رشد لوله گرده در طول خامه مشاهده شد و در ژنوتیپ ۱۰۷۵۴۸ که از همان ابتدا رشد دانه گرده در سطح کلاله مشاهده نشد. با توجه به داده های جدول ، خودناسازگاری تعدادی از ژنوتیپ ها مشخص شد که با نتایج به دست آمده در باغ مطابقت می کند. البته گاهی اوقات نتایج دور از ذهن نیز مشاهده می شود که می تواند به آلودگی های کلاله به سایر دانه های گرده نسبت داده شود و در مواردی نیز نقص مادگی و عدم تکامل آن به دلیل بسیار جوان بودن گلها یا پیر بودن آنها عامل این تناقص در رفتار گزارش شده است.



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپی از تعقیب لوله گرده در شش ژنوتیپ/رقم مورد مطالعه. در حالت سازگاری رشد لوله گرده تا انتهای خامه مشاهده می شود(دو تصویر فوقاتی). در حالت ناسازگاری توقف رشد و غیرطبیعی بودن رشد لوله گرده را می توان در بافت خامه دید(چهار تصویر دیگر).

فهرست و منابع

نجاتیان، م.، ۱۳۸۷ ، زردآلوی ایرانی، چاپ نشر آموزش کشاورزی.

نکونام، فاطمه ، ۱۳۸۸. اثر نوع دانه گرده روی درصد تشکیل میوه و برخی خصوصیات کمی و کیفی میوه زردآلو. ششمین کنگره باغبانی ایران، ۲۲ تا ۲۵ تیرماه.

Alonso, J.M and i Company R.S., 2005. "Self incompatibility expression in self- compatible almond genotypes may be due to inbreeding". Amer. Soc. Hort. Sci. 130(6): 865-869.

Arzani، K.، Koushesh-Saba، M. & Ghanati، F. (2005). Study on compatibility and pollen tube growth of some Asian pear (Pyrus serotina Rehd.) cultivars. Acta Horticulturae، 671، 159-163.

Egea J. L. Burgos N. Zoroa L. Egea 1992. Influence of temperature on the in vitro germination of pollen of apricot (Prunus armeniaca L). Journal of Horticultural Science 67: 247-250.

Hajilou، J.، Grigorian، V.، Mohammadi، S.A.، Nazemmieh، A. & Burgos، L. (2006). Pollen tube growth and fruit set percentage in two apricot cultivars under self- and cross- pollination condition. Iranian Journal of Horticultural science & Technology، 7(3)،147-156.

Jie، Q.، Shupeng، G.، Jixiang، Z.، Manru، G. & Huairui، S. (2005). Identification of self-incompatibilitygenotypes of apricot (Prunus armeniaca L.) by S-allele-specific PCR analysis. Biotechnology Letters،27، 1205-1209.

Ruiz، D.، Egea، J. (2008). Analysis of the variability and correlations of floral biology factors affecting fruit set in apricot. Scientia Horticulturae, Volume 115, issue 2 (January 7, 2008), p. 154-163.

Sanzol، J.، & Herrero، M. (2001). "The Effective pollination period in fruit trees". Scientia Horticulturae، Volume 90, Issues 1–2, 29 October 2001, Pages 1–17

Stosser، R.، Hartman، W. & Anvari، S.F. (1996). General aspects of pollination and fertilization of pome and stone fruit. Acta Horticulturae، 423، 15-21.

Surnyi, D. (1995) Newer results in morphogenetic studies of flower on apricot varieties. Acta Hort., 384: 379-384