

بررسی قابلیت جوانه زنی و درصد زنده بودن اولیه دانه گرده پنج ژنوتیپ مرکبات

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

۱- به ترتیب دانشجو و استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر. ۲- اعضای هیئت علمی موسسه تحقیقات مرکبات کشور، رامسر.

* نویسنده مسئول: مالک قاسمی

چکیده

در انجام تحقیقات اصلاحی بر روی درختان میوه، حصول از اطمینان زیوایی دانه گرده و تعیین درصد جوانه زنی در محیط درون شیشه ای، از فاکتورهای موثر در امر میزان تشکیل میوه (Fruit set) می باشد. این خصوصیات در محیط درون شیشه‌ای به تبعیت از آن، دوره گرده افشانی موثر (EPP)، تابع عواملی چون، رقم، پایه، دما، شرایط تغذیه‌ای و اقلیم می‌باشند. روش‌های متفاوتی به این منظور به کار می‌رود. در این تحقیق از ماده استوکارمین جهت تعیین درصد زیوایی دانه گرده (رنگ آمیزی) و محیط کشت تغییر یافته بروبیکر (بوریک اسید ۴۰ پی پی ام، سوکروز ۱۵۰ و آگار ۷ گرم در لیتر) جهت جوانه زنی دانه گرده استفاده شد. دانه‌های گرده از ژنوتیپ‌های فلاپینگ درآگون، پونسیرس تریفولیاتا، ترویرسیترنج، سوئینگل سیتروملو، دورگ یاشار که در فصل بهار از نظر زمان گل‌دهی با یکدیگر متفاوت می‌باشند، جمع آوری و پس از رطوبت‌گیری در ظروف پلاستیکی درب‌دار مخصوص ذخیره شد. نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که از نظر میانگین درصد زنده بودن دانه گرده فلاپینگ درآگون با ۹۵ درصد بالاترین و سیتروملو با ۶۵.۶۹ درصد کمترین مقدار در صد زنده بودن را به خود اختصاص داده است. و از نظر میانگین درصد جوانه زنی دانه گرده یاشار با ۱۳.۳۲ درصد بالاترین مقدار و سیتروملو با ۲.۵ درصد کمترین مقدار جوانه زنی را به خود اختصاص داده است. از نظر میانگین طول لوله گرده یاشار با ۲۲۷ میکرون بالاترین مقدار و فلاپینگ درآگون با ۸۲.۶ میکرون کمترین مقدار را داشته است. بنابراین رقم یاشار از نظر درصد جوانه زنی و همچنین در صد زنده بودن نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها مناسب تر می باشد.

واژه‌های کلیدی: آزمون زیوایی، استوکارمین، دانه گرده، مرکبات

مقدمه

حفظ قوه‌ی نامیه‌ی دانه‌های گرده در گیاهان، به منظور رفع مشکل زمان و مکان در انجام تلاقی‌های مصنوعی، همواره مورد توجه به‌نژادگران اصلاح نباتات بوده است. دانه‌های گرده در امر باروری و تولید نسل نقش به‌سزایی را ایفا می‌کنند. اصلاح‌کننده‌گان نباتات در خانواده 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 سال آوری، مواجه هستند (۵). بنابر این، جهت سهولت اجرای برنامه‌های به‌نژادی از طریق تلاقی، 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 (۶). اصلاح‌گران نباتات در انجام تلاقی‌های مصنوعی، دانه‌های گرده، نارنج سه برگ‌چه - ای را به دلیل غالب بودن صفت سه برگ‌چه ای، به عنوان والد نر در سطح گسترده استفاده می‌کنند (۶ و ۷). این رقم جزو ارقام زودگل در خانواده مرکبات به‌شمار آمده و در بهار نسبت به سایر ارقام، گل‌ها زودتر باز می‌شوند. از ارقام دیرگل و تک‌جنین، مانند نارنگی کلمانتین، عمدتاً به‌عنوان والد ماده استفاده می‌شود. در پژوهشی به‌نژادگران دریافته‌اند که، می‌توان بدون کنترل رطوبت نسبی محیط، قوه‌ی نامیه‌ی دانه گرده را در دمای زیر صفر درجه سانتی‌گراد نیز حفظ نمود. به‌طوری‌که این وضعیت مناسب‌تر از دماهای بالای صفر درجه سانتی‌گراد و رطوبت کنترل شده می‌باشد (۸). هم‌چنین نیز محققین نتایج ارزنده‌ای از وضعیت نگهداری دانه گرده مرکبات در دمای ۵- درجه سانتی‌گراد را گزارش نموده‌اند، ولی در آزمایشات به‌عمل آمده آنها، دریافته‌اند که دانه‌های گرده رقم یافا، شموطی بعد از گذشت ۱۴ روز و دانه گرده پونسیرس تریفولیاتا بعد از ۲۸ روز فاقد قوه‌ی نامیه شده بودند (۶). در گزارشی دیگر دریافته‌اند که نگهداری دانه‌های گرده روی یخ خشک و در

صد بالای دی اکسید کربن موجود در اتمسفر انبار، می تواند نقش مهمی در افزایش طول عمر دانه های گرده داشته باشد. بر اساس گزارشی در سال ۱۹۶۴، انبار نمودن دانه های گرده در اکسیژن خالص نیز سبب کاهش قوه ی نامیه آنها می گردد (۸). هم چنین اسپیگل روی و سحر دریافند که جایگزین نمودن نیتروژن به جای اتمسفر معمولی انبار، دوره نگهداری قوه نامیه ی گرده نارنگی کلمانتین را تا ۲۷ هفته افزایش می دهد. در ضمن عمر انبار مانی دانه های گرده ی مرکبات در اتمسفر عاری از اکسیژن همراه با دمای پایین (۱۸- درجه سانتی گراد) می تواند، طول مدت نگهداری را افزایش دهد (۹).

مواد و روش ها

این تحقیق به منظور دستیابی به زمان های مناسب، جهت بررسی و تعیین در صد جوانه زنی دانه گرده تازه، پنج ژنوتیپ از مرکبات هم چون فلائینگ دراگون، پونسیرس تریفولیاتا، ترویرسیترنج، سوئینگل سیتروملو، دورگک یاشار می باشند. این آزمایش به صورت فاکتوریل دو فاکتوره با طرح پایه کاملاً تصادفی و با سه تکرار و در هر تکرار از یک لام جمعا به تعداد ۳ لام برای هر تیمار، که کلا به تعداد ۱۵ لام برای ۵ تیمار، در محل آزمایشگاه موسسه تحقیقات مرکبات کشور (رامسر) انجام گرفت. که در آن فاکتور اول (A) دانه های گرده تازه (fresh) و فاکتور دوم (B) ژنوتیپ های مورد نظر (فلائینگ دراگون، تریفولیاتا، ترویرسیترنج، سوئینگل سیتروملو دورگک یاشار) می باشند. مواد آزمایشی این تحقیق (دانه های گرده) از درختان بالغ واقع در موسسه تحقیقات مرکبات کشور (رامسر) تهیه گردید. که از نظر موقعیت جغرافیایی در طول ۳۶ درجه ۵۴ دقیقه شمالی، و به عرض ۵۰ درجه ۳۹ دقیقه شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۴ متر، واقع در نواحی جنوبی ساحلی دریای مازندران قرار گرفته، جمع آوری خواهند شد. برای این منظور از گل هایی که در حالت نیمه شکوفا و کاملاً متورم و آماده باز شدن می باشند، استفاده شد. جمع آوری گل ها، بین ساعات ۹ تا ۱۱ صبح انجام و پس از جمع آوری، نسبت به جداسازی بساک ها از میله های پرچم اقدام گردید. بساک های جمع آوری شده را بر روی ورق مومی و در محیط ایزوله در داخل پتری دیش (ظروف شیشه ای) ریخته، جهت کاهش رطوبت موجود از دانه های گرده آنها را به مدت ۲۴ ساعت در دستگاه دسیکاتور حاوی ماده ژل سیلیکا و در دمای محیط (۱+ ۲۴) قرار داده شد. پس از گذشت این مدت و پاره شدن بساک ها و آزادسازی دانه های گرده، نسبت به جداسازی دانه های گرده از پوسته بساک ها (الک نمودن) آنها اقدام شد. پس از جمع آوری دانه های گرده تازه (Fresh) نسبت به تعیین درصد زیوایی آنها اقدام شد. این آزمون به دو روش: ۱- استفاده از ماده استوکارمین (پودر آهن، استیک اسید (گلاسیان) ۴۵ درصد و کارمین)، از طریق رنگ آمیزی دانه های گرده. ۲- استفاده از محیط کشت تغییر یافته برویکر (۴۰ پی ام بوریک اسید، ۱۵۰ گرم سوکروز و ۷ گرم آگاردر لیتر). جهت تعیین درصد جوانه زنی دانه های گرده، ابتداء، محیط کشت آماده شده را بر روی لام ریخته (محیط کشت درون شیشه ای، In-vitro)، سپس دانه های گرده را توسط یک قلم موی نقاسی که حاوی های گرده می باشند به آرامی بر روی محیط کشت (لام) پخش می نماییم. با قرار دادن آنها در درجه حرارت مناسب محیط (۱+ ۲۵ درجه سانتی گراد)، به مدت ۴۸ ساعت بعد، نسبت به شمارش دانه های گرده جوانه زده در زیر میکروسکوپ نوری از طریق مشاهده میداین گوناگون (حداقل به تعداد ۴۰۰ عدد) اقدام شد. دانه ی گرده ای جوانه زده محسوب می شود که، حداقل طول لوله گرده آن مساوی یا دو برابر طول قطر آن باشد. اندازه طول لوله گرده با استفاده از یک صفحه شیشه ای مدرج میکرومتری که در عدسی چشمی قرار دارد، اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

حفظ قوه ی نامیه ی دانه های گرده در گیاهان، به منظور رفع مشکل زمان و مکان در انجام تلاقی های مصنوعی، همواره مورد توجه به نژاد گران اصلاح نباتات بوده است. دانه های گرده در امر باروری و تولید نسل نقش به سزایی را ایفا می کنند. اصلاح کننده گان نباتات در خانواده مرکبات، اغلب با موانعی هم چون، عدم هم زمانی دوره های گل دهی، چند جنینی بودن بذر، ناسازگاری برخی از ارقام، طولانی بودن دوره نونهالی و تمایل برخی از ارقام به سال آوری، مواجه هستند. نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که از نظر میانگین در صد زنده بودن اولیه دانه گرده (رنگ آمیزی با محلول استوکارمین)، فلائینگ دراگون ۵۷.۵۷، ۹۵ در صد بیشترین و سیتروملو با ۶۹.۶۹ درصد کمترین مقدار در

صد، را به خود اختصاص داده است. از نظر میانگین درصد جوانه زنی دانه های گرده تازه، رقم یاشار با ۱۳،۳۲ در صد بیشترین مقدار و سیتروملو با ۲،۵ در صد کمترین مقدار را به خود اختصاص داده است. از نظر میانگین طول رشد لوله گرده، رقم دورگ یاشار با ۲۲۷ میکرون بیشترین و فلایینگ دراگون با ۸۲،۶ میکرون کمترین مقدار را به خود اختصاص داده است. بنابراین رقم دورگ یاشار از نظر در صد جوانه زنی اولیه، در صد زنده بودن اولیه و طول رشد دانه گرده نسبت به بقیه ژنوتیپ ها مناسب تر می باشد.

منابع

- ۱- آمار نامه کشاورزی ایران (۱۳۸۷). انتشارات وزارت جهاد و کشاورزی.
- ۲- گلچین، ب. و ب. عدولی. ۱۳۹۰. مرکبات (کاشت). انتشارات نوین پویا. ۱۶۰ صفحه.
- ۳- فتوحی قزوینی، ر. و ج. فتاحی مقدم. ۱۳۸۵. پرورش مرکبات در ایران. انتشارات دانشگاه گیلان. ۳۰۵ صفحه.
- ۴- خوشخوی، م، ب. شیبانی، ا. روحانی و ع. تفضلی. ۱۳۸۳. اصول باغبانی. انتشارات دانشگاه شیراز. ۵۹۶ صفحه.
- ۵- ایمانی، ع. ۱۳۹۰. تکثیر و شناخت درختان میوه. دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابهر. ۶۲۰ صفحه
- ۶-Sahar, N. and P. Spiegel- Roy. ۱۹۸۰. Citrus pollen storing. HortScienc ۱۵:۸۱-۸۲.
- ۷-Soot, R.K. and J.W. Cameron. ۱۹۷۹. Citrus. Pp. ۵۰۱-۵۴۰. In: Janick, Y; and J.N. Moore,(eds.) Advances in Fruit Breeding. Prudue Univ. Press, West Lafayette Indiana.
- ۸-Linskens, H.F. ۱۹۶۴. Pollen physiology and Fertilization. North-Holland Publishing Company.
- ۹- Ganeshan, S. and V.V. Suhadmath. ۱۹۸۳. Pollen storage studies on Citrus limon Burm. Varietal difference and influence of flower type. Gartenbauwissenschaft ۴۵: ۵۱-۵۴.

Study of pollen germination and viability of the five citrus genotypes

B. Dadash Zade^{۱*}, V. Rabiei^۱, M. Ghasemi^۲ and F. Rafat^۱

۱- Department of Horticultural sciences, Azad University, Abhar Branch. ۲- Iran Citrus Research Institute, Ramsar.

*Corresponding author

Abstract

Fulfilling the research on the breeding of fruit trees, and the attainment of the pollen viability and pollen germination in vitro, are the factors involved in the formation of the fruit (Fruit set). The properties of the glass in compliance with the effective pollination period (EPP), subject to factors such as, the figure, base, temperature, nutritional and climatic conditions are. Different methods are used for this purpose. This study was designed to determine the percentage of pollen viability with acetocarmin, and the culture medium was modified brobaker (۴۰ ppm boric acid, sucrose and agar ۷ g in ۱۵۰ ml) was used for pollen germination. Pollen grains of genotypes - Flying dragon, Poncirus trifoliata, Troyer citrange, swingle citromelo & Yashar hybrids that differ are flowering in the spring time, collected and saved for later after dehydration in plastic containers. Statistical analysis showed that the mean percentage of pollen viability Flying Dragon with the highest ۹۵% and ۶۵ citromelo. The minimum percentage of ۶۹% is allocated to be alive. Mean percentage germination of pollen from Yashar, with ۱۳،۳۲ per cent highest and lowest germination is accounted for Citromelo (۲،۵ per cent). A pollen tube length of ۲۲۷ microns with Yashar highest and Flying Dragon with the ۸۲،۶ microns was lowest. So Yashar digit percentage of germination percentage viability relative to the rest of the genotype is more appropriate.

Keywords: Viability test, Acetocarmin, pollen, citrus