

بررسی ریخت‌شناسی دانه گرده تعدادی از ژنوتیپ آلبالوی (*Sour cherry*) بومی ایران بوسیله اسکن با نگاره الکترونی (SEM)

حسین مومنی^۱، ناصر بوذری^{۲*}، مهرشاد زین العابدینی^۳، مرضیه قنبری چهارمی،

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران.

^۲ پژوهشکده میوه های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، کرج.

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران

*نویسنده مسئول: bouzari1111@yahoo.com

چکیده

ایران یکی از مراکز تنوع آلبالو (*Prunus cerasus L.*) در دنیا می باشد. با توجه به تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت این گونه در کشور، یکی از گام اساس در اصلاح و معرفی ارقام جدید، ارزیابی صفات متمایزکننده در آن‌ها است. بررسی مورفولوژی دانه‌های گرده در علم گیاهشناسی و تاکسونومی اهمیت بسیار زیادی دارد. این پژوهش به منظور مطالعه مورفولوژی دانه‌های گرده تعدادی از آلبالوهای انتخابی بومی ایران انجام شد. به این منظور ۵ ژنوتیپ برتر که طی تحقیقات ۳ سال اخیر جزء ژنوتیپ‌های مرغوب و امیدبخش انتخاب شده بودند، مورد ارزیابی قرار گرفتند. گل‌های ژنوتیپ‌های مورد نظر در دهه اول فروردین در مرحله بالونی از درخت جدا و سپس دانه‌های گرده در شرایط ایزوله جدا و خشک گردید. صفات اندازه و شکل گرده (طول، عرض و نسبت طول به عرض) تعداد شیار از دو جهت محور قطبی و محور استوایی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (SEM) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که گرده همه ژنوتیپ‌ها دارای ۳ شیار طولی در سطح خود بودند که امتداد آن تا قطبین اندازه‌گیری شده است، تغییرات طول محور قطبی از ۴۸/۳ تا ۵۳/۲ میکرومتر و محور استوایی از ۲۲/۶ تا ۲۶/۳ میکرومتر بوده است، گرده‌ها از نظر میزان روزنه‌های سطحی بسیار متفاوت بودند. نتایج این پژوهش مشخص نمود که شاخص‌های نگاره الکترونی می‌تواند معیاری قابل قبول برای جدا سازی ژنوتیپ‌های بومی آلبالو از یکدیگر باشد.

واژه‌های کلیدی: آلبالو، مورفولوژی، دانه گرده، نگاره الکترونی.

مقدمه

علم گرده‌شناسی علم بررسی دانه‌های گرده و هاگ‌ها است. دسترسی به SEM و انگیزش ناشی از کاربرد آن باعث شد که دانشمندان علم رده بندی دانه‌های گرده را به عنوان منبعی از ویژگی‌ها در نظر گیرند. معرفی و رده‌بندی ارقام درختان میوه، کاری مشکل و پیچیده است و این به سبب وجود تعداد زیادی اسم و مترادف‌های آن‌ها است که با هم کدبندی نشده‌اند. بنابراین گاهی ممکن است ارقام مختلف با یک نام مشخص شده باشند و یا یک رقم در منطقه دیگر یا همان منطقه با نام‌های مختلف شناخته شود این مشکلات در معرفی یک رقم، ناشی از این واقعیت است که نشانگرهای بیولوژیکی و بیوشیمیایی برای معرفی کامل وجود ندارد و این در حالیست که عوامل محیطی و زراعی می‌توانند بر تغییرهای فنوتیپی اثر گذاشته و در نتیجه معرفی یک گیاه را غیر قابل اطمینان کنند، استانلی و لینسکنز (۲۵) نتیجه گرفتند که الگوی روی گرده به صورت ژنتیکی برای گونه‌های مختلف گیاهی ثابت است و می‌تواند برای معرفی آن‌ها در گرده‌های فسیل و یا گرده‌های تازه مورد استفاده قرار گیرد. ویژگی‌های رده‌بندی موجود در دانه‌های گرده شامل ریخت‌شناسی دیواره گرده، قطبیت، تقارن، شکل و اندازه آن‌ها است. اغلب، بیشتر جنس‌ها و گونه‌ها از نظر دانه گرده با یکدیگر تفاوتی ندارند اما در بعضی جنس‌ها نیز تفاوت‌هایی یافت شده است، پژوهش روی دانه گرده ارقام آلبالو و گیلان نشان داده است که تفاوت‌های زیادی در بین ارقام مختلف مورد بررسی وجود داشته است و ویژگی‌های گرده نشانگر ارتباط بین گونه و گسترش آن‌هاست. دسته‌بندی شکل دانه گرده توسط ارتمن بر اساس نسبت بین طول محور قطبی و پهنای استوایی صورت گرفته است، که بر این اساس دانه‌های گرده در

هشت گروه قرار می‌گیرند که کمترین نسبت ۰/۵ و بیشترین نسبت ۲ می‌باشد. با توجه به اهمیت روز افزون کشت و تولید آلبالو در سطح جهانی و اهمیت توجه به صادرات غیرنفتی که در رأس آن‌ها می‌تواند محصولات باغی باشد، لزوم انجام پژوهش‌های اولیه برای انجام کارهای به‌نژادی برای رسیدن به عملکرد مطلوب احساس می‌شود. هم‌اکنون بر اساس آخرین آمار اعلام شده توسط سازمان خوار و بار جهانی (FAO) در سال ۲۰۱۲ میلادی، ایران (با تولید ۹۴۰۰۰ تن) پس از کشورهای ترکیه، ایالت متحده، ازبکستان و شیلی رتبه پنج تولید را در جهان برخوردار است. از آنجا که ثابت شده است دانه‌های گرده منبع ژنتیکی مهمی در کارهای به‌نژادی برای انجام دو رگه‌گیری و منبع قابل توجهی از نظر داشتن ویژگی‌های ظاهری منحصر به فرد برای استفاده در شناسایی ارقام و گونه‌های درختان میوه و سایر گیاهان هستند، در این پژوهش به بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی سطح دانه‌های گرده و ویژگی‌های همچون طول محور قطبی P پهنای استوایی E و نسبت محور قطبی به پهنای استوایی در بین نژادگان آلبالوی ایرانی منتخب پرداخته شده تا بتوان با استفاده از نتایج به وجود تفاوت‌ها بین نژادگان‌های مختلف پی‌برد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: پنج ژنوتیپ برای این آزمایش از ژنوتیپ‌های برتری که در باغ تحقیقاتی پژوهشکده میوه‌های معتدله موسسه تحقیقات علمی باغبانی (واقع در شهر کرج) بود، انتخاب گردید. این کلکسیون در باغ ۱۰۰ هکتاری تحقیقاتی در منطقه مشکین دشت کرج واقع است و هم‌اکنون بیش از ۱۵۰ ژنوتیپ آلبالوی بومی ایران در تکرارهای چهار اصله‌ای در این کلکسیون کاشته شده‌اند. طی سال‌های گذشته و طی تحقیقات گسترده این ژنوتیپ‌ها (ژنوتیپ‌های انتخابی جزو بهترین ژنوتیپ‌های موجود انتخاب شده‌اند و مراحل معرفی بعنوان ارقام امید بخش درحال انجام است، سن این ژنوتیپ‌ها ۸ سال و همگی روی پایه بذری مهلب (*Prunus mahaleb*) پیوند شده‌اند. در اواسط فروردین ماه سال ۹۹ گل‌ها در مرحله بالونی شکل یا پاپ کورنی (مرحله‌ای که در آن گل‌ها بطور کامل برآمده بوده و آماده شکوفایی هستند) برای اطمینان بیشتر از آمیخته شدن دانه‌های گرده نژادگان‌های مختلف شاخه‌های از پیش به وسیله کیسه‌های پارچه‌ای پوشانده شده بودند تا از امکان هرگونه گرده‌افشانی خارجی جلوگیری شود. این شاخه‌ها در سوها و زوایای مختلف درخت انتخاب شده بودند. پس از انتقال گل‌ها به آزمایشگاه بساک‌ها جدا شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند و سپس گرده‌ها از بساک‌های خشک جمع‌آوری شد و در ظروف شیشه‌ای درب‌دار (دارای رطوبت‌گیر) در یخچال قرار داده شدند. انجام این کار جهت جلوگیری از فساد احتمالی گرده‌ها به دلیل وجود رطوبت احتمالی صورت گرفت.

مراحل آماده سازی گرده برای اسکن با (SEM): پس از انتقال گرده‌ها (با ظروف محافظت‌شده دمایی حدود ۲ تا ۵ درجه) به آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی (SEM) در مرکز پژوهش متالوژی رازی با دستگاه روکش‌کننده طلا با ذرات طلا به قطر ۰/۲ میکرومتر پوشانده شدند و با میکروسکوپ الکترونی مورد اسکن قرار گرفتند. در مراحل اسکن از بررسی دانه‌های گرده نارس (که هنوز کامل نشده بودند) صرف نظر شد و دانه‌های کامل شده از نظر شکل ظاهری/محور استوایی/محور قطبی/تعداد شیار/وضعیت تقارن/روزنه و شکل از نگاه قطب و استوا بررسی گردید.

نتایج و بحث

دانه‌های گرده تمامی ژنوتیپ‌های آلبالوی مورد پژوهش به صورت شعاعی، متقارن سه ضلعی (ایزوپلار) و سه حلقه‌ای هستند، همانطور که در سایر گونه‌های *Prunus* این گزارشات مشاهده می‌شود (Radicevice, 2013). شکل دانه‌های گرده از نظر قطب گرد و از نظر استوایی بیضوی بودند، اگر چه اکثر گرده‌ها شکل متوازن سه قسمتی داشتند، اما در بعضی از گرده‌های (بعضی از ژنوتیپ‌ها) شکل کمی از تقارن خارج شده بود (Miaja et al., 2000).

جدول ۱- میانگین بدست آمده اضلاع مختلف دانه گرده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی.

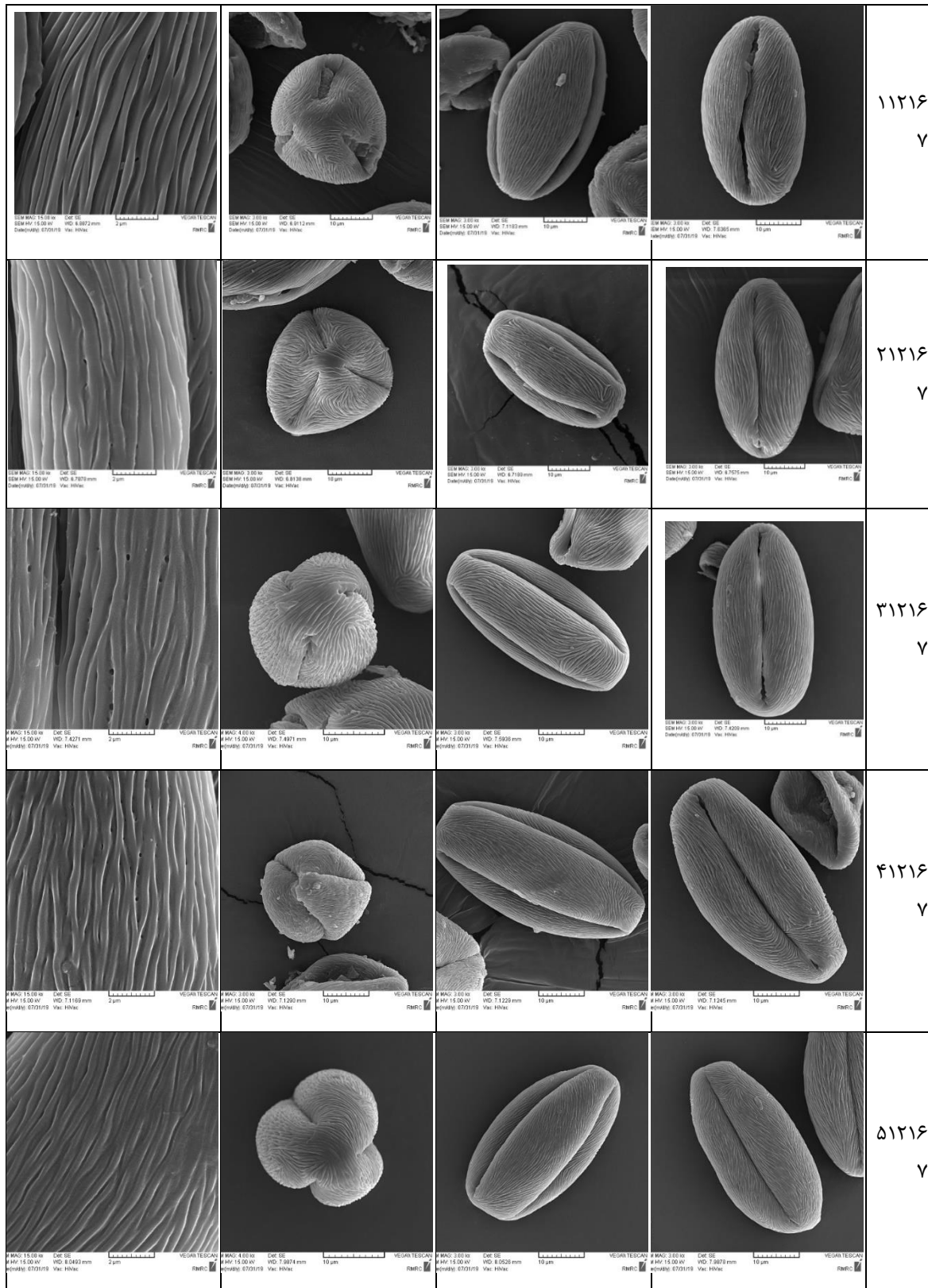
Mesocolpium width (μm)	Colpus length (μm)	Length: width ratio	Pollen width (μm)	Pollen length (μm)	Cul-number
13.2	44.2	2.13	22.6	48.3	112167
14.3	42.3	1.99	24.6	49	212167
14.3	45.2	1.97	25.8	50.9	312167
15.3	46.2	2.02	26.3	53.2	412167
13.2	45.7	1.87	26.3	49.3	512167

طول گرده: نتایج مقایسه میانگین نشان داد که همانطور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، تفاوت معنی‌داری (در سطح ۰٫۰۱) در صفت طول گرده‌ها مشاهده می‌گردد در این مقایسه کد ژنوتیپ‌های ۱۱۲۱۶۷، ۲۱۲۱۶۷، ۵۱۲۱۶۷ در یک گروه و کدژنوتیپ ۳۱۲۱۶۷ در گروه دیگر و کد گروه ۴۱۲۱۶۷ در گروه سوم قرار گرفتند.

جدول ۲- مقایسه میانگین طول دانه گرده در پنج ژنوتیپ برتر.

طول دانه گرده	نام ژنوتیپ انتخابی
48.2 ^a	112167
48.9 ^a	212162
49.2333 ^a	512167
50.8333 ^b	312167
52.8333 ^c	412167

عرض گرده: در مقایسه میانگین عرض دانه گرده کد ژنوتیپ‌های ۱۱۲۱۶۷، ۲۱۲۱۶۷ در در صفت عرض دانه گرده در یک گروه قرار می‌گیرند و کد ژنوتیپ‌های ۲۱۲۱۶۷، ۳۱۲۱۶۷، ۴۱۲۱۶۷، ۵۱۲۱۶۷ در گروه دیگر قرار می‌گیرند همچنین کد ژنوتیپ ۲۱۲۱۶۷ با توجه به مقداری که دارد می‌تواند در هر کدام از دو گروه قرار بگیرد (مقدار مرزی). در بررسی صفت کیفی وجود روزنه‌های روی سطح گرده تفاوت‌های بارزی مشاهده گردید بطوری که کد ژنوتیپ ۵۱۲۱۶۷ تقریباً بدون روزنه می‌باشد و کد ژنوتیپ ۵۳۱۲۱۶۷ دارای بیشترین تعداد روزنه می‌باشد.



جدول ۳: تصاویر برداشت شده از دانه‌های گرده پنج ژنوتیپ برتر با میکروسکوپ الکترونی.

همانطور که در تصاویر و جداول نمایش داده شد، بین ژنوتیپ‌های مختلف آلبالوی انتخابی اختلاف معنی‌داری در شکل ظاهری، طول، عرض دانه‌گرده و تزئینات روی سطح پتنه‌ها وجود دارد. بیشترین طول دانه‌گرده متعلق به ژنوتیپ ۴۱۲۱۶۷ با میانگین ۵۳/۲ میکرومتر و کمترین طول دانه‌گرده متعلق به ژنوتیپ ۱۱۱۱۶۷ با میانگین ۴۸/۳ میکرومتر می‌باشد، همچنین بیشترین عرض دانه‌گرده متعلق به ژنوتیپ‌های ۴۱۲۱۶۷ و ۵۱۲۱۶۷ با میانگین ۲۶/۳ میکرومتر و کمترین عرض دانه‌گرده متعلق به ژنوتیپ ۱۱۲۱۶۷ با ۲۲/۶ میکرومتر می‌باشد. در بررسی تزئینات روی سطح دانه‌گرده کمترین میزان (در حدود صفر) حفره‌های سلول مانند متعلق به ژنوتیپ ۵۱۲۱۶۷ و بیشترین این نقاط به ژنوتیپ ۳۱۲۱۶۷ می‌باشد. از آنجاییکه ژنوتیپ‌های انتخابی در این پژوهش از نظر بسیاری از صفات (وزن میوه، زمان گلدهی، رنگ میوه و ...) نسبتاً شبیه به یکدیگر بودند، تفاوت‌های بارز در فنولوژی دانه‌گرده راهکاری بسیار دقیق در ایجاد دسته‌بندی بین ژنوتیپ‌ها و روشی راه‌گشا می‌باشد. پیشنهاد می‌گردد در کنار این بررسی آزمایشات مولکولی صورت پذیرد تا بتوان به اطمینان بیان کرد که تفاوت‌های موجود در شکل ظاهری دانه‌گرده منحصر در هر ژنوتیپ اختصاصی است و این روش سریع و ارزان‌تر می‌تواند جایگزین روش‌های مولکولی و یا مکمل ارزیابی‌های فیزیکی شیمیایی گردد.

منابع

- همایونی، آ، بوذری، ن. و عبدوسی، و. ۱۳۹۱. تنوع ژنتیکی برخی ژنوتیپ‌های بومی آلبالو در ایران بر اساس نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی. مجله بهنژادی نهال و بذر، ۱-۲۸(۲): ۲۳۹-۲۵۵.
- نجف‌زاده، ر، ارزانی، ک. و بوذری، ن. ۱۳۹۳. ارزیابی تنوع مورفولوژیکی و پومولوژیکی برخی ژنوتیپ‌های انتخابی آلبالوی ایران. مجله به نژادی نهال و بذر، ۱-۳۰: ۲۴۳-۲۶۷.
- نجف‌زاده، ر، ارزانی، ک، و بوذری، ن. ۱۳۹۳. خصوصیات فیزیکی شیمیایی و کیفی میوه برخی ژنوتیپ‌های برتر آلبالو (*Runus Cerasus*) (L). مجله به نژادی نهال و بذر، ۱(۳۰): ۶۳۳-۶۵۰.
- Moore, P.D., Webb, J.A., Collinson, M.E. 1991. Pollen Analysis (2nd ed). Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Nikolic, D. 2017. Scanning electron microscopy study of pollen morphology of five sour cherry cultivars.
- Arzani, k., Nejatian, M.A., karimzadeh, G. 2005. Apricot (*prunus armeniaca*) pollen morphological characterization through scanning electron microscopy.
- Asma, B.M. 2008. Determination of pollen viability, germination ratios and morphology of eight apricot genotypes.
- Brown, S.K. 1996. Cherries in fruit breeding vol.

Evaluation of pollen morphology of a number of sour cherry genotypes of Iranian sour cherry by scanning with electronic drawing (SEM)

Hossein Momeni¹, Naser Bouzari^{2*}, Mehrshad zeynolabedini³, marzieh ghanbari jahromi⁴

^{1,4}Department of Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Temperate and Cold Fruits Research Institute (TCFRI), Horticulture Science Research Institute

³Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran

*Corresponding Author: bouzari1111@yahoo.com

Abstract

Iran is a center of cherry diversity (*Prunus cerasus* L.) in the world. This species has a high genetic diversity in Iran. Therefore, one of the basic steps in breeding and introducing new cultivars is to evaluate their distinguishing traits. The study of pollen morphology is critical in botany and taxonomy. This study was carried out to investigate the pollen morphology of the selected native cherries. For this purpose, the top five selected genotypes, as high quality and promising genotypes during the last three years of research, were evaluated. The flowers were collected from the trees in the first ten days of the spring (balloon stage), and then the pollens were separated and dried under isolated conditions. Pollen size and shape (length, width, and length/width ratio), as well as the number of grooves, were examined from both directions of the polar and equatorial axis using electron microscopy (SEM). The results showed that the pollens had three longitudinal grooves on their surfaces, the length of which was measured to the poles. The polar and equatorial axis lengths varied from 48.3 to 53.2 μm and 22.6 to 26.3 μm , respectively. Moreover, pollens were diverse in terms of the surface pores' number. The results of this study indicated that electronic imaging indices could be an acceptable criterion for the individuation of native cherry genotypes.

Keywords: Cherry, Morphology, Pollen, Electronic drawing.