مطالعه ماندگاری دانه‌های گرده برخی توده‌های هندوانه خوراکی (*Citrullus lunatus*) و هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) در شرایط دمایی متفاوت

مریم عبادی حسن‌آبادی[۱]، فروزنده سلطانی[۲]

[۱] دانشجوی فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[۲] استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج، ایران

*نویسنده مسئول: Soltanyf@ut.ac.ir

چکیده

به‌منظور ارزیابی ماندگاری دانه‌های گرد، توده‌های مختلف هندوانه از جمله: TN-94-469، TN-94-513، TN-94-511، Crimson sweet و توده هندوانه ابوجهل (*Citrullus colocynthis*) انتخاب و در زمین زراعی کشت شدند. پس از ظهور گل‌های نر، صبح زود جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. درصد جوانه‌زنی گرده‌ها قبل از انبارمانی مورد آزمایش قرار گرفت که برای همه توده‌ها در حدود ۹۵٪ بود. دانه‌های گرده خشک (دهیدراته) شده برای مدت ۱۲ ماه در شرایط دمای ۴، ۲۰- و ۸۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند. نسبت گرده‌های زنده برای تمام توده‌های نگهداری شده در دمای ۲۰ – سانتی‌گراد ۵۷٪ و در دمای ۸۰- سانتی‌گراد، ۶۶/۶ ٪ بود، درحالی‌که میانگین جوانه‌زنی گرده‌های ذخیره شده در ۴°C به ۲۱/۷۹٪ کاهش یافت. پس از ۱۲ ماه نگهداری، دانه گرده توده TN-94-469 زنده‌مانی بیشتری نسبت به سایر توده‌ها در تمام شرایط دمایی نشان داد. کمترین میزان جوانه‌زنی مربوط به TN-94-513 در دمای ۴ درجه سانتیگراد و پس از آن TN-94-511، کریمسون سوییت و هندوانه ابوجهل بود. نگهداری دانه‌های گرده در دمای –۸۰ درجه سانتیگراد نسبت به دو دمای ذخیره‌سازی دیگر، بقای گرده را به میزان قابل‌توجهی (بالای ۶۰٪) حفظ کرد. بر اساس نتایج، گرده‌ها تفاوت قابل‌توجهی را نسبت به تحمل شرایط دمای پایین انبارمانی و نگهداری در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نشان می‌دهند، زنده‌مانی و جوانه‌زنی آنها بخصوص بعد از ۶ ماه نگهداری به طور قابل‌توجهی بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی، دانه گرده، زنده‌مانی، هندوانه ابوجهل، هندوانه.

مقدمه

هندوانه با نام علمی (*Citrullus lanatus*) گونه‌ای رونده با میوه‌هایی درشت از خانواده کدوییان است که در مناطق وسیعی رشد و نمو می‌کند و بومی مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌باشد. هندوانه ابوجهل (*C. colocynthis*) بومی شمال آفریقا و مناطقی از مدیترانه، ایران، پاکستان و افغانستان می‌باشد که برای اهداف دارویی و کنترل جوندگان در این مناطق کشت می‌شود. گل ها با رنگ زرد کم‌رنگ تا مایل‌به‌سبز، با اندازه حدود ۲،۵ سانتیمتر، نسبت به گل‌های دیگر جنس‌های خانواده کدوییان کمتر به چشم می‌آیند. گل‌های نر و ماده آن به طور جداگانه روی یک بوته قرار دارند. گل‌ها در محور برگ‌ها به صورت انفرادی قرار می‌گیرند و تعداد گل‌های نر همیشه بیشتر از گل‌های ماده است. معمولاً گرده‌ها نیز در گل ماده ناقص‌اند. جوانه‌زنی گرده و رشد لوله گرده از شرط‌های لازم برای باروری، رشد میوه و دانه است. هندوانه ابوجهل در شرایط آب‌وهوایی گرم و خشک تا نیمه‌خشک ایران رشد می‌کند. گیاهانی که در معرض شرایط نامساعد محیطی مانند دمای بالا، باد و تنش خشکسالی هستند، زنده ماندن و جوانه‌زنی دانه گرده، و در نتیجه عملکرد و کیفیت میوه آنها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. ذخیره کردن دانه گرده برای حفاظت از منابع ژنتیکی و روشی برای صرفه‌جویی وقت در برنامه‌های اصلاحی محصولات، مفید است (Gomes *et al*., 2003). زنده ماندن دانه گرده به‌شدت تحت تأثیر دما، رطوبت، تنوع ژنوتیپی، قدرت گیاه و مرحله فیزیولوژیک سن گل است. دما عامل اصلی مؤثر در جوانه‌زنی و طول عمر دانه‌های گرده ذخیره شده است (Kopp *et al.*, 2002). چندین محقق زنده‌مانی و جوانه‌زنی دانه‌های گرده‌ی گونه‌های مختلف را در شرایط متفاوت نگهداری مانند نیتروژن مایع (۱۹۶ – درجه سانتیگراد) ، یخچال (۴+ درجه سانتیگراد) ، فریزر (با دماهای منفی مختلف) ، یخ خشک و حلال‌های آلی بررسی و مطالعه کرده‌اند (Oliveira *et al.*, 2001; Kopp *et al*., 2002; Khan and Perveen , 2010; Perveen and Ali , 2011).

ارزیابی ظرفیت جوانه‌زنی (زنده‌مانی) دانه‌های گرده که از گل‌های نر گرفته شده است در مدت نگهداری برای فرایند هیبریداسیون مصنوعی بسیار مهم است. بر اساس نتایج Sari-Gorla و همکاران (۱۹۹۵)، قطر دانه گرده و توانایی نفوذ لوله گرده ممکن است به‌عنوان شاخص کیفیت گرده، مستقل از محیطی که گل‌ها گرده‌افشانی می‌شوند، در نظر گرفته شود، اما عملکرد گرده باتوجه‌به ژنتیک متفاوت است. زنده‌مانی دانه گرده، به‌عنوان معیاری برای باروری گل‌های نر، به‌وسیله تکنیک‌های مختلفی تعیین می‌شود. هیچ مطالعه قبلی در مورد حفاظت و نگهداری گرده گیاهان هندوانه ابوجهل و هندوانه‌های محلی ایران گزارش نشده است. این تحقیق می‌تواند به تسهیل حفاظت از ژرم پلاسم، هیبریداسیون بین‌گونه‌ای و شناسایی گونه‌های ترکیبی (هیبرید) توسط گرده‌افشانی مصنوعی با استفاده از گرده‌های ذخیره شده کمک کند. باتوجه‌به اهمیت اقتصادی و دارویی فوق‌العاده هندوانه و هندوانه ابوجهل، این مطالعه بر روی زنده ماندن دانه گرده در شرایط مختلف انبارمانی متمرکز شده است. در مطالعه حاضر ما بر روی توده‌هایی از هندوانه که از کیفیت مطلوب و رنگ گوشت متنوعی برخوردار بودند و همچنین ویژگی‌های مهم مانند تحمل شرایط تنش‌زا را داشتند تمرکز کرده‌ایم (Mohammadzadeh, and Soltani. 2016).

مواد و روش

مواد گیاهی

ماده گیاهی مورداستفاده در این تحقیق هندوانه کریمسون سوییت، ابوجهل و سه توده با رنگ گوشت متفاوت با کدهای TN-94-511,513, 469 که در تاریخ ۱۵ اردیبهشت ۱۳۹۲، در مزرعه ایستگاه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران کاشته شد. طرح آزمایشی در مزرعه به صورت بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار بود. عملیات کوددهی، آبیاری و دفع آفات با استفاده از دستورالعمل‌های استاندارد انجام شد. در زمان نمونه‌برداری، گل‌های نر صبح زود قبل از هرگونه گرده‌افشانی از گیاه برداشت شدند. این امر به‌منظور اطمینان از عدم گرده‌افشانی توسط گرده‌افشان‌ها بود تا مقدار کافی گرده مناسب برای تجزیه‌وتحلیل در دسترس باشد. گل‌ها در کیسه‌های پلاستیکی در جعبه یخ و شرایط خنک قرار داده شده و به آزمایشگاه منتقل شدند.

نگهداری و انبارمانی دانه گرده

برای آب‌گیری (دهیدراته کردن) دانه گرده، بساک هر گل نر با استفاده از پنس جدا شده و در ۱۰ میلی‌لیتر پنتان غوطه‌ور و تکان داده شد تا دانه‌های گرده در حلال ته‌نشین شوند. جداسازی گرده از حلال با استفاده از حلال خشک‌کن انجام شد. در این آزمایش نمونه‌ها از ۱۰ گل در چهار تکرار برداشت شده و به مدت ۱۲ ماه در لوله‌های اپندورف ۱٫۵ میلی‌لیتری در دمای ۴ ، ۲۰ – و ۸۰– درجه سانتیگراد نگهداری شدند. زنده‌مانی دانه‌های گرده برای همه تیمارهای دمایی در فواصل ۲ ماهه با استفاده از جوانه‌زنی و رشد در یک محیط مصنوعی آزمایش شد.

تست جوانه‌زنی

گرده تازه در شرایط ۲۵ درجه سانتیگراد تحت آزمایش‌های اولیه زنده‌مانی قرار گرفت (Alburquerque *et al*., 2007). به‌منظور انجام این آزمایش گرده‌ها روی محیط کشت داخل پتری دیش حاوی ۲۵ میلی‌لیتر بستر کشت که شامل ۱۵٪ ساکارز، ۱/۵٪ آگار، ۱۰۰ پی‌پی‌ام H_3BO_3، ۳۰۰ پی‌پی‌ام $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ بود، پخش شدند. قبل از آزمایش جوانه‌زنی گرده‌های انبار شده، لوله‌های اپندورف به‌تدریج تا دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرم شدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در محفظه آب‌رسانی با رطوبت نسبی ۹۶٪ قرار گرفتند تا در هنگام قرارگرفتن گرده در محیط کشت، از آسیب ناشی از جذب ناگهانی رطوبت جلوگیری شود. پس از ۲ ساعت انکوباسیون در همان محیط، تعداد جوانه‌زنی با بزرگ‌نمایی ۴۰ برابر توسط میکروسکوپ نوری انجام شد. هنگامی که طول لوله گرده از قطر گرده بیشتر بود، جوانه‌زنی دانه گرده موفقیت‌آمیز در نظر گرفته شد (Ducon, 1968). چهار ناحیه دید مختلف، هرکدام با مساحت ۱۲/۵ میلی‌مترمربع و شامل 300-250 دانه گرده، در هر تیمار مورد بررسی قرار گرفتند.

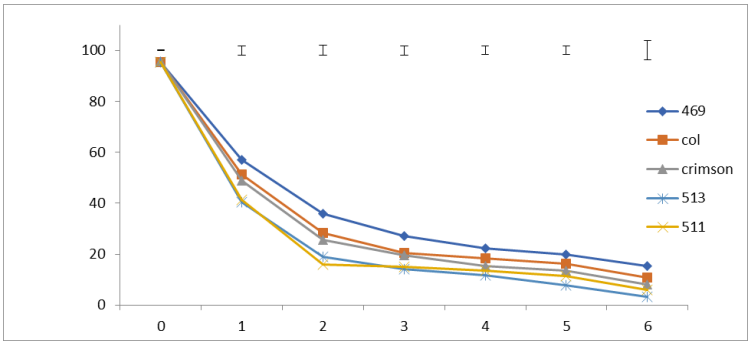
نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده تازه جمع‌آوری شده برای همه توده‌ها در حدود ۹۵٪ بود. گرده‌هایی که در شرایط ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، پس از دو ماه اول جوانه‌زنی‌شان به طور معنی‌داری کاهش یافت و پس از آن به‌تدریج تا یک سال به میزان ۲۱/۷۹٪ درصد کاهش یافت (جدول ۱).

جدول ۱. تأثیر نوع توده و درجه حرارت دمای نگهداری بر جوانه‌زنی گرده‌های جنس هندوانه

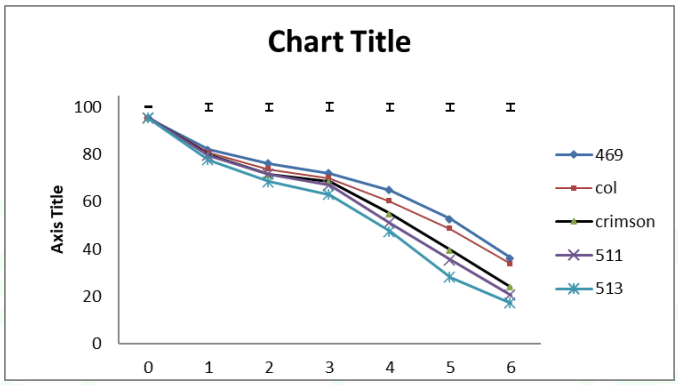
Accession	Germination %
TN-94-469	55.206 a
Colocynth	51.841 b
Crimson sweet	48.29 c
TN-94-511	44.506 d
TN-94-513	42.686 e
4	21.794 c
-20	57.17 b
-80	66.54 a

پس از چهار ماه، کاهش جوانه‌زنی دانه‌های گرده روند نزولی پایداری را تا پایان دوره انبارمانی نشان داد، درحالی‌که TN-94-513 کمترین جوانه‌زنی را داشت (۳/۳۳ درصد) و بیشترین میزان آن ۱۵/۳۱ درصد برای TN 94-469 بود (شکل ۱). تفاوت در بین توده‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود به طوری که زنده‌مانی توده TN-94-469 (۲۹/۵۶٪) بیشتر از سایرین بود و همچنین، اثر متقابل آنها نیز معنی‌دار بود. این نتایج با مطالعات khan and Perveen (۲۰۱۰) که مشاهده کردند، جوانه‌زنی گرده هندوانه در شرایط نگهداری ۴ درجه سانتیگراد حدود ۵۶٪ بود و پس از ۴۸ هفته به کمتر از ۲۰٪ کاهش یافت، مطابقت دارد. نتایج مطالعاتی که توسط Alburquerque و همکاران (۲۰۰۷) به‌منظور تأثیر درجه حرارت انبارمانی بر زنده ماندن دانه گرده در هفت رقم گیلاس شیرین انجام شد، اثر متقابل توده بر دما را تأیید می‌کند.

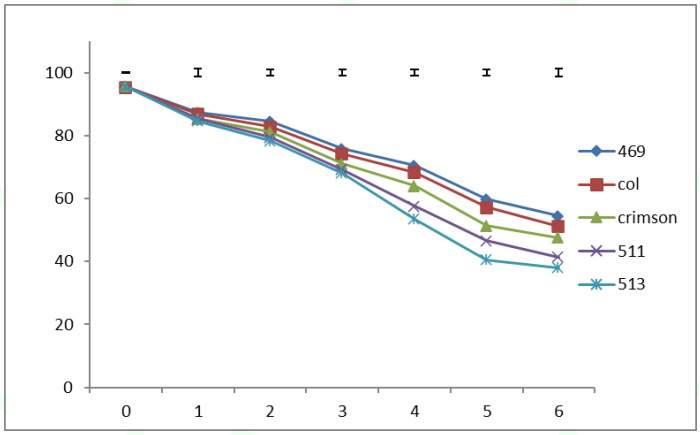


شکل ۱. جوانه‌زنی دانه‌های گرده پنج توده هندوانه نگهداری شده در دمای C ° ٤ به مدت ۱۲ ماه (ارزیابی‌ها در فواصل ۲ ماهه است).

ماندگاری دانه گرده توده TN-94-469 در دو دمای انبارمانی دیگر به ترتیب ۶۳٪ و ۷۲٪ در شرایط ۲۰- و ۸۰- درجه سانتیگراد بود. نتایج نشان دادند که زنده ماندن دانه گرده در شرایط نگهداری دمای ۲۰- درجه سانتیگراد در طی یک سال برای همه ارقام موردمطالعه می‌تواند با درصد بالایی حفظ شود (شکل ۲ و ۳). پس از ۱۲ ماه، توده TN-94-513 با نام محلی " آجیلی سبزوار " کمترین میانگین جوانه‌زنی ۵۰/۲۹٪ در ۲۰- و ۶۰/۵۱٪ در ۸۰- درجه سانتیگراد و پس از آن "TN-94-511" (۵۴/۱٪ ، ۶۳/۲٪) ، کریمسون سوییت (۵۶/۳٪ ، ۶۶/۷٪) و هندوانه ابوجهل (۶۱/۱۵ درصد، ۷۰/۱۴ درصد) داشت (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲. جوانه‌زنی دانه‌های گرده پنج توده هندوانه نگهداری شده در دمای C ° ۲۰- به مدت ۱۲ ماه (ارزیابی‌ها در فواصل ۲ ماهه است).



شکل ۳. جوانه‌زنی دانه‌های گرده پنج توده هندوانه نگهداری شده در دمای C ° ۸۰- درجه سانتیگراد (ارزیابی‌ها در فواصل ۲ ماهه است).

ماندگاری دانه گرده در پایان دوره انبارمانی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد (۵۱/۲٪) نسبت به دمای ۲۰- درجه سانتیگراد (۳۳/۷۲ درصد) برای پنج توده مورد ارزیابی به طور قابل‌توجهی بالاتر بود (جدول ۲). مشابه این نتایج توسط Martínez-Gómez و همکارانش (۲۰۰۳) گزارش شد که یافته‌هایشان نشان داد میزان جوانه‌زنی دانه گرده چهار رقم مختلف بادام پس از یک سال انبارمانی در شرایط نگهداری ۸۰- درجه سانتیگراد، بالاتر از شرایط دمایی ۰ و ۲۰- درجه سانتیگراد را بود. همان‌طور که داده‌ها نشان داد اثرات متقابل مدت‌زمان نگهداری و نوع توده برای TN-94-513 یا "آجیلی سبزوار" کمترین مقدار بود. شکل (۲ و ۳) نشان داد که در طول ۶ ماه اول انبارمانی، زنده ماندن دانه‌های گرده بیش از ۶۰٪ در هر دو دمای ۲۰- درجه سانتیگراد و ۸۰- درجه سانتیگراد بود اما پس از آن (۶ ماه دوم) مقدار جوانه‌زنی به طور قابل‌توجهی کاهش یافت که در پایان آزمایش کمتر از ۲۰٪ ثبت شد. میزان زنده ماندن و قابلیت جوانه‌زنی دانه‌های گرده در باتوجه‌به مدت‌زمان نگهداری کاهش می‌یابد، همان‌طور که توسط Martínez-Gómez و همکارانش (۲۰۰۳) نیز گزارش شده است. زنده ماندن و قابلیت جوانه‌زنی دانه گرده تحت تأثیر طول ذخیره‌سازی، دمای نگهداری و ژنوتیپ قرار دارد. در نتیجه، طول عمر گرده پس از نگهداری در شرایط انبار سرمایی در توده‌های هندوانه متفاوت است که علت این تفاوت‌های ژنتیکی هنوز مشخص نشده و در حال بررسی است. نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد پس از دو ماه انبارمانی به طور قابل‌توجهی زنده‌مانی گرده را کاهش داد. نگهداری موفقیت‌آمیز گرده برای مدت‌زمان بیشتر از ۱ سال به دمای کمتر از ۰ درجه سانتیگراد نیاز دارد. از دانه‌های گرده انبار شده در دمای ۲۰- و ۸۰- درجه سانتیگراد پس از ۱ سال نتایج مشابهی را به دست آمد.

جدول ۲. جوانه‌زنی دانه‌های گرده پنج توده هندوانه در محیط کشت پس از ۱۲ ماه نگهداری در سه دمای مختلف انبارمانی

Accession	Temperature(c)	Germination (%)
TN-94-469	4	29.56 c
	-20	63.98 b
	-80	72.07 a
Colocynth	4	24.24 c
	-20	61.15 b
	-80	70.14 a
Crimsonsweet	4	21.84c
	-20	56.31b
	-80	66.72 a
TN-94-511	4	16.08 c
	-20	54.15 b
	-80	63.29 a
TN-94-513	4	1 7.26 c
	-20	50.9 b
	-80	60.51 a

هزینه‌های اضافی نگهداری در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد، من‌جمله اقدامات موردنیاز برای گرم‌کردن و آبرسانی مجدد دانه گرده ذخیره شده، ممکن است دمای انبارمانی ۲۰- درجه سانتیگراد را برای نگهداری طولانی‌تر از ۲ تا ۱۲ ماه راحت‌تر کند. بررسی و شناسایی انواع مختلف توده‌های هندوانه و هندوانه ابوجهل که از شرایط مختلف آب‌وهوایی جمع‌آوری شده‌اند، می‌تواند ارزیابی مناسبی از میزان ماندگاری دانه گرده آنها برای استفاده در برنامه‌های اصلاح نژاد باشد. این نتایج نشان داد که گرده‌های تازه گونه هندوانه که در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شوند، ظرفیت جوانه‌زنی‌شان کاهش‌یافته و کمترین جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط آزمایشگاهی پس از ۱۲ ماه انبارمانی در ۴ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. این مطالعه نشان می‌دهد که دانه گرده هندوانه و هندوانه ابوجهل می‌تواند به طور مؤثری در طول فصل گلدهی ذخیره شده و به طور مؤثری انتقال آسان گرده رابین گونه‌های *Citrullus* امکان‌پذیر کند. برخی از نابسامانی‌های فیزیولوژیکی به دلیل در دسترس نبودن دانه گرده تازه یا محدود بودن زمان گلدهی در هندوانه اتفاق می‌افتد. باتوجه‌به عمر کوتاه گل نر و شرایط نامساعد محیطی در زمان تشکیل میوه در هندوانه، از گرده جمع شده و ذخیره شده در دمای زیر صفر می‌توان برای گرده‌افشانی‌های مزرعه استفاده کرد. علاوه بر این می‌تواند مشکل مربوط به برنامه اصلاح نژاد در فصل پاییز و در شرایط گلخانه ای را حل کند.

منابع

Alburquerque N, García Montiel F, Burgos L (2007). Short communication. Influence of storage temperature on the viability of sweet cherry pollen. Spanish J. Agric. Res., 5(1): 86-90

Ducon, P. 1968. La fructification des arbres fruitiers. Etude de quelques caractères du pollen et de la biologie florale de l´Amandier e Pommier. Pomologie Française 5.

Gomes PR, Raseira MCB, Baudet LL and Peske ST (2003) Armazenamento do grão de pólen de cebola (*Allium cepa* L.). Revista Brasileira de Sementes 25: 14-17.

Khan, S.A., and A. Perveen. 2010. *In vitro* pollen germination capacity of *Citrullus Lanatus* L., (Cucurbitaceae). *Pak. J.Bot*., 42(2): 681-684.

Kopp RF, Maynard CA, Niella PR, Smart LB and Abrahamson LP (2002) Collection and storage of pollen from salix (Salicaceae). American Journal of Botany 89: 248-252.Kearns CA and Inouye D (1993) Techniques for pollinations biologists. University Press of Colorado, Colorado, 579p.

Mohammadzadeh, Z. and F. Soltani. 2016. Response of some watermelon accessions to water deficiency stress induced by Poly Ethylene Glycol. Iranian Journal of horticultural science, 47:571-579.

Oliveira MSP, Maués MM and Kalume MAA (2001) Viabilidadede pólen *in vivo* e *in vitro* em genótipos de açaizeiro. Acta Botânica Brasilica 15: 63-67.

Perveen, A. and S. Ali. 2011. Pollen germination capacity and maintenance of pollen in *Praecitrullus fistulosus* (stocks) Pangola (Cucurbitaceae). *Pak. J. Bot*., 43(1): 47-50.

Pio LAS, Ramos JD, Pasqual M, Junqueira KP, Santos FC and Rufini JCM (2007) Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. Ciência eAgrotecnologia 31: 147-153.

Sari-Gorla M, Mulcahy DL, Villa M and Rigola D (1995) Pollen pistil interaction in maize: effects on genetic variation of pollen traits. Theoretical and Applied Genetics 91: 936-940.

Evaluation viability of some watermelon accession pollen grains (*Citrullus lunatus*) and *Citrullus colocynthis* in different temperature conditions

Maryam Ebadi Hassan Abadi[1], Forouzande Soltani[2]
[1]MSc Graduate student Department of Horticultural Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
[2]Assistant Professor Department of Horticultural Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
*Soltanyf@ut.ac.ir *Corresponding Author:*

Abstract

In order to study the storage viability of watermelon pollen grains, different watermelon accessions, including TN-94-469, TN-94-513, TN-94-511, Crimson sweet, and one accession of *Citrullus colocynthis,* as desert watermelon were selected and planted in the field. After the appearance of male flowers, pollen was collected and moved to the laboratory in the morning. Pollens germination percentages were tested before storage that was for all accessions around 95%. Pollen grains were dehydrated and stored over 12 months at 4,–20, and –80°C temperatures. The proportion of viable pollen exceeded 57% for all accessions in temperatures–20 and 66.6% at –80, while mean germination of pollens stored at four decreased to 21.79%. After 12 months of storing, TN-94-469 showed more viability than other accessions in all temperatures condition. The minimum germination rate was TN-94-51۳ at four °C following TN-94-51۱, Crimson sweet, and colocynth. Storage at -80°C temperature maintained pollen viability significantly more (above 60%). Based on results, accessions pollens illustrated significant differences in their tolerance to the low-temperature condition of storage and storage at–80 °C conserved viability for all accessions considerably more, especially after six months of storage.

Keywords: Colocynth, Germination, Pollen, Viability, Watermelon.