

بررسی سازگاری گرده و مادگی تلاقی‌های دی‌آل بادام با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت و درصد تشکیل میوه

مه‌دی فلاح^{۱*}، علی ایمانی^۲، یاور شرفی^۲، موسی رسولی^۴

^۱ دانشجوی دکتری علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

^۲ دانشیار بخش تحقیقات باغبانی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

^۳ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

^۴ استادیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

*نویسنده مسئول: fallah_mahdi@yahoo.com

چکیده

بادام (*Prunus dulcis* L.) یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس پرونوس می‌باشد که اکثر ارقام و ژنوتیپ‌های آن خودناسازگار و برخی نیز دگرناسازگارند. ارقام خودناسازگار برای گرده‌افشانی، تلقیح و تولید نیازمند دانه‌گرده سازگار سایر ارقام می‌باشند. در این راستا مطالعه سازگاری گرده‌افشانی سه رقم تونو، شکوفه، سهند و سه ژنوتیپ امیدبخش انتخابی A1.16، A9.7، A230 با استفاده از روش گرده‌افشانی کنترل‌شده و بررسی رشد لوله‌گرده توسط میکروسکوپ فلورسنت در آزمایشگاه و محاسبه درصد تشکیل میوه در باغ انجام گرفت. ترکیب تلاقی‌ها بر اساس همپوشانی گلدهی در پنج گروه به صورت دی‌آل انجام شد. نتایج نشان داد که ترکیب تلاقی ♂A9.7 × ♀تونو (با ۶۰/۵۲ درصد تشکیل میوه و ۱۰/۹۷ درصد نفوذ لوله‌گرده به تخمدان)، تونو ♂ × ♀A9.7 (با ۶۶/۶۷ درصد تشکیل میوه و ۱۰/۴ درصد نفوذ لوله‌گرده به تخمدان) و ♂A1.16 × ♀شکوفه (با ۷۴/۹۲ درصد تشکیل میوه و ۱۴/۴۰ درصد نفوذ لوله‌گرده به تخمدان) بیشترین سازگاری در تلاقی‌های دی‌آل بکار رفته در گروه‌های مختلف را داشتند. همچنین، تلاقی‌های تونو ♂ × ♀A230 (با ۳۰/۹ درصد تشکیل میوه و ۳ درصد نفوذ لوله‌گرده به تخمدان) و تونو ♂ × سهند ♀ (با ۲۹/۲ درصد تشکیل میوه و ۱/۸ درصد نفوذ لوله‌گرده به تخمدان) کمترین سازگاری را بین تلاقی‌ها داشتند.

کلمات کلیدی: بادام، سازگاری، گرده‌افشانی کنترل‌شده، تشکیل میوه، میکروسکوپ فلورسنت.

مقدمه

بادام (*Prunus dulcis*) یکی از مهم‌ترین میوه‌های خشک مناطق معتدله بوده که اکثر ارقام آن خودناسازگار هستند و برای تولید میوه تجاری نیاز به گرده‌افشانی با دانه‌گرده مناسب و سازگار دارند، بنابراین تعیین سازگاری ارقام قبل از احداث باغ از اهمیت بالایی در تولید بادام برخوردار است (Imani and Talaie, 1998; Socias I company.). 1990 خودناسازگاری موجود در ارقام مختلف بادام و گونه‌های دیگر جنس پرونوس از نوع گامتوفیتیک می‌باشد (Dicenta et al, 1993) و آلل‌های ناسازگاری این جنس دارای دو اینترون هستند (Martinez Gomez et al, 2003). پژوهشگران برای شناخت از سازگاری دانه‌گرده با مادگی از روش‌های مختلفی مانند گرده‌افشانی کنترل‌شده در مزرعه و محاسبه درصد تشکیل میوه، تلاقی کنترل‌شده و سپس ردیابی رشد لوله‌گرده با میکروسکوپ فلورسنت، الکتروفورز پروتئین‌های خامه و PCR اختصاصی آلل S، استفاده کرده‌اند (Ortega et al, 2002; Martinez-Gomez et al, 2003; Sanchez-perez et al, 2004). گرده‌افشانی کنترل‌شده در مزرعه و محاسبه درصد تشکیل میوه در چند هفته پس از گرده‌افشانی و ردیابی رشد لوله‌گرده در زمان‌های مختلف پس از گرده‌افشانی در نقاط مختلف مادگی از روش‌های

متداول برای ارزیابی سازگاری دانه گرده و مادگی می‌باشد. بررسی نفوذ لوله گرده در نقاط مختلف مادگی نشان داد زمان ۷۲ ساعت برای رسیدن لوله گرده به تخمدان تلاقی‌های بررسی شده مناسب نبوده و در زمان ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی درصد مادگی‌های دارای لوله گرده در قسمت انتهایی خامه افزایش یافت (Ortega et al, 2002). هدف از انجام این تحقیق بررسی روابط سازگاری دانه گرده و مادگی برخی ارقام و نژادگان‌های بادام با روش گرده‌افشانی کنترل‌شده در مزرعه، بررسی درصد تشکیل میوه و ردیابی رشد لوله گرده با میکروسکوپ فلورسنت جهت انتخاب بهترین ترکیب تلاقی‌ها و توصیه‌های لازم برای احداث باغ و برنامه‌های اصلاحی بود.

مواد و روش‌ها

ترکیب تلاقی‌ها بر اساس همپوشانی گلدهی در پنج گروه شامل A9.7 × تونو، A230 × تونو، A1.16 × تونو، سهند × تونو و A1.16 × شکوفه به صورت دی‌آل انجام شد به این ترتیب که در هر گروه هر دو رقم یا نژادگان یک‌بار به عنوان والد مادری و یک‌بار به عنوان والد پدری در نظر گرفته شدند. جهت اطمینان از قدرت جوانه‌زنی دانه‌های گرده اقدام به کشت دانه‌گرده در محیط کشت جامد حاوی ۱۵ درصد ساکاروز، یک درصد آگار و ۲۰ پی‌پی‌ام اسیدبوریک استفاده شد و سپس درصد جوانه‌زنی آن‌ها تعیین شد (Imani and Talaie, 1998). برای انجام گرده‌افشانی در زمان مناسب در هر واحد آزمایشی عمل گرده‌افشانی کنترل‌شده انجام و تعداد گل‌های گرده‌افشانی شده در هر شاخه ثبت و کیسه‌ها روی شاخه‌ها قرار گرفتند. به منظور تعیین درصد تشکیل میوه، در سه نوبت (شمارش اول ۱۶ روز، شمارش دوم ۴۲ روز و شمارش سوم ۹۰ روز) بعد از عمل گرده‌افشانی تعداد میوه‌های تشکیل شده شمارش و نتایج ثبت گردید (Rasouli et al, 2009).

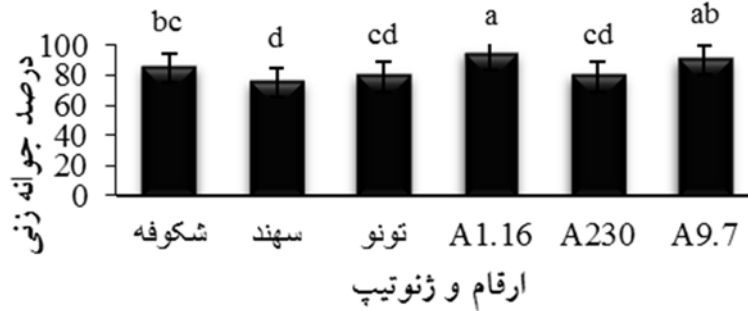
به منظور ردیابی لوله گرده مادگی‌های تلقیح شده ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی قطع شده و در محلول فیکساتور قرار داده شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها از محلول فیکساتور خارج و در محلول سولفیت سدیم ۵ درصد قرار گرفتند، سپس به منظور نرم شدن بافت مادگی در داخل اتوکلاو در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شده و در نهایت توسط محلول آنیلین بلو رنگ‌آمیزی لوله‌های گرده انجام گرفت (Socias i Company et al, 1976). زوائد و کرک‌های موجود روی خامه و تخمدان پاک شدند و نفوذ لوله گرده ارقام مختلف در مادگی‌ها با میکروسکوپ فلورسنت مورد بررسی قرار گرفت. میانگین جوانه‌زنی دانه گرده در سطح کلاله و لوله‌های گرده وارد شده به نقاط مختلف مادگی ثبت شد و بر اساس آن درصد نفوذ لوله‌های گرده به قسمت بالایی و میانی خامه و تخمدان محاسبه و ملاک تجزیه آماری قرار گرفت (Rasouli and Arzanim 2010). آزمایش تست جوانه‌زنی دانه در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام گرفت. آزمایش مربوط به ترکیب تلاقی‌ها در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی انجام گرفت و آزمایش مربوط به ردیابی لوله گرده در مادگی نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ده تکرار برای هر ترکیب تلاقی انجام گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه دانکن در هر گروه به صورت جداگانه و از طریق نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ مورد آنالیز قرار گرفت. نمودار از طریق نرم‌افزار EXCEL رسم گردید.

نتایج و بحث

جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط درون شیشه

نتایج جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط درون شیشه‌ای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد نشان داد. درصد جوانه‌زنی دانه گرده ارقام مورد مطالعه در دامنه ۷۵ تا ۹۴ درصد بود. بالاترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده مربوط به ژنوتیپ A1.16 (۹۴ درصد) و کمترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده مربوط به رقم سهند (۷۵ درصد) بود (نمودار ۱).

جوانه‌زنی مناسب گرده ارقام و ژنوتیپ‌های بکار رفته در تحقیق حاضر نشان از قوه نامیه بالای آن‌ها بوده که در صورت سازگاری والد‌های مادری با والد‌های پدری می‌توان انتظار داشت که تعداد مطلوبی لوله گرده وارد تخمدان شود.

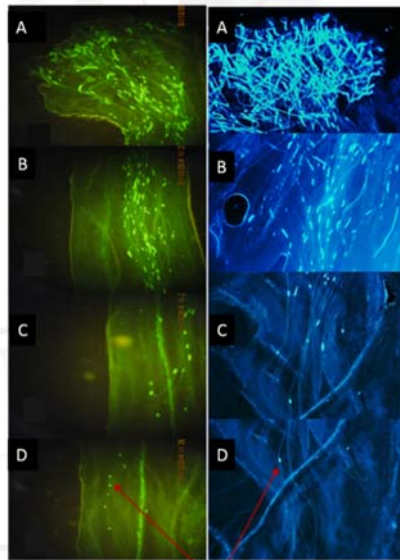


نمودار ۱- درصد جوانه‌زنی ارقام و ژنوتیپ‌ها

در درختان میوه میزان درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده متفاوت بوده و باید محیط کشت مناسب هر گونه یا رقم به صورت اختصاصی تهیه گردد همچنین، علاوه بر ترکیبات محیط کشت، سن اولیه گرده و درجه حرارت در جوانه‌زنی گرده بادام به طور قابل ملاحظه‌ای تأثیرگذار است (Imani and Tlaie, 1998).

میزان نفوذ لوله گرده به نقاط مختلف مادگی

ردیابی رشد لوله گرده در نقاط مختلف مادگی ترکیب تلاقی‌های مختلف با میکروسکوپ فلورسنت انجام و درصد نفوذ لوله گرده به قسمت بالایی خامه، قسمت میانی خامه و درون تخمدان تلاقی‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد درصد رشد لوله گرده از سمت کلاله به تخمدان کاهش می‌یابد (شکل ۱).



شکل ۱- جوانه‌زنی و رشد لوله گرده رقم تونو در سطح کلاله (A)، بالای خامه (B)، وسط خامه (C) و درون تخمدان (D) ژنوتیپ A9.7 (سمت چپ)، جوانه‌زنی و رشد لوله گرده رقم سهند در سطح کلاله (A)، بالای خامه (B)، وسط خامه (C) و درون تخمدان (D) رقم تونو.

در تلاقی‌های مختلف میزان نفوذ لوله گرده در نقاط مختلف مادگی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشت که نشان از قابلیت متفاوت رشد لوله گرده در تلاقی‌های مختلف دارد. مقایسه میانگین درصد لوله گرده وارد شده به تخمدان نشان داد ترکیب تلاقی‌های $A1.16 \times A9.7$ ♂ × شکوفه ♀، $A9.7 \times A9.7$ ♂ × تونو ♀، $A9.7 \times A9.7$ ♂ × تونو ♀، و $A1.16 \times A9.7$ ♂ × شکوفه ♀ به ترتیب

با ۱۴/۴۰، ۱۰/۹۷، ۱۰/۴ و ۱۰/۲ درصد، دارای بیشترین درصد نفوذ لوله‌های گرده به تخمدان بودند (جدول ۱). تحقیقات نشان می‌دهد عوامل محیطی مانند باد، باران و دماهای پایین می‌توانند باعث کندی رشد لوله گرده در خامه شده و زمان رسیدن لوله گرده به تخمدان را طولانی و حتی غیرممکن سازد. سرعت حرکت لوله گرده در خامه ارقام مختلف با دام متفاوت بوده و دما تأثیر متفاوتی بر سرعت رشد لوله گرده در ارقام مختلف دارد.

جدول ۱- درصد نفوذ لوله گرده به نقاط مختلف مادگی و درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های مختلف

درصد تشکیل میوه				درصد لوله گرده نفوذ کرده			ترکیب تلاقی	
شمارش سوم	شمارش دوم	شمارش اول	تعداد گل تلقیح شده	درون تخمدان	قسمت میانی خامه	قسمت بالایی خامه	♂	♀
۶۶/۶۷ab	۷۱/۲۲a	۷۷/۳۰ab	۵۳۵	۱۰/۶ab	۲۵/۴۹ bc	۵۳/۲۵ab	Tuono × A _{9.7}	
۶۰/۵۲ab	۶۵/۷۲ab	۷۵/۷۵ ab	۳۹۴	۱۰/۹۷ab	۱۷/۵۶cde	۵۲/۸۰ab	A _{9.7} × Tuono	
۳۰/۹e	۳۷/۵de	۴۳/۲c	۴۱۵	۳c	۱۱/۸e	۵۷/۱a	Tuono × A ₂₃₀	
۴۲/۴۵cde	۴۵/۸۲cd	۴۷/۸۲c	۶۲۶	۳/۱۵c	۱۱/۸۰c	۳۱/۷۷c	A ₂₃₀ × Tuono	
۲۹/۲e	۳۱/۵e	۴۷/۲c	۵۶۵	۱/۸c	۲۳/۴bcd	۳۶/۸bc	Tuono × سهند	
۳۹/۵۲de	۴۳/۸۷cde	۴۵/۷۲c	۳۸۵	۳/۷۴c	۱۳/۴۳de	۳۶/۸۷bc	سهند × Tuono	
۵۴/۵bcd	۵۶/۶bc	۷۳/۸ab	۴۰۲	۸/۳b	۲۸/۷bc	۷۰/۳a	Tuono × A _{1.16}	
۵۶/۶۰bc	۶۲/۵۲ab	۶۸/۳۲b	۳۰۹	۸/۳۸b	۲۳/۸۴bcd	۶۵/۰۵a	A _{1.16} × Tuono	
۷۴/۹۲a	۷۶/۲۵a	۸۱/۶۰a	۵۱۸	۱۴/۴۰ a	۳۰/۸۸ b	۵۷/۷۱ a	شکوفه × A _{1.16}	
۵۵/۱bc	۵۶/۶bc	۶۷/۳b	۵۳۰	۱۰/۲ab	۴۵a	۶۱/۴a	شکوفه × A _{1.16}	

محاسبه درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های مختلف (جدول ۱) نیز نشان داد بین گرده دهنده‌های مختلف استفاده در تلاقی‌های مختلف از نظر درصد تشکیل میوه نیز مانند درصد نفوذ لوله گرده در مادگی اختلاف معنی‌دار وجود داشت. ترکیب تلاقی‌های A_{1.16} ♂ × شکوفه ♀، تونو ♂ × A_{9.7} ♀ و A_{9.7} ♂ × تونو ♀ به ترتیب با ۷۴/۹۲، ۶۶/۶۷، ۶۰/۵۲ درصد، درصد تشکیل میوه دارای بیشترین درصد تشکیل میوه بودند. همانند آنچه در میزان نفوذ لوله گرده توسط گرده دهنده‌های مختلف به تخمدان این تلاقی‌ها مشاهده شد، نتایج بدست آمده از درصد تشکیل میوه نیز با آن مطابقت داشته و نشان داد در تلاقی‌هایی که میزان نفوذ لوله گرده به تخمدان بیشتر بود، درصد تشکیل میوه نیز بیشتر می‌باشد. این نتیجه با نتایج سایر محققین (Ortega et al., 2002). مبنی بر افزایش درصد تشکیل میوه با افزایش نفوذ لوله گرده به تخمدان، مطابقت داشت. در اکثر تلاقی‌های بکار رفته در این تحقیق درصد تشکیل میوه بالایی بدست آمد که این نتایج با نتایج بدست آمده برای درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های، مرسد ♂ × کارپاریل ♀ (با ۶۷/۵۰ درصد تشکیل میوه) و تونو ♂ × کارپاریل ♀ (با ۶۹/۵۰ درصد تشکیل میوه) مطابقت داشت (Dorostkar et al., 2005).

در تلاقی‌های دی‌آل تونو × سهند و تونو × A₂₃₀ در هر دو حالت که ارقام تونو و سهند و ژنوتیپ A₂₃₀، چه به‌عنوان والد مادری و چه به‌عنوان والد پدری بودند کمترین درصد نفوذ لوله گرده به تخمدان و کمترین درصد تشکیل میوه مشاهده شد. وجود آلل S₁ در ارقام سهند و تونو (Zeinalabedini et al., 2007) و ژنوتیپ A₂₃₀ (Fallah et al., 2014) نشان داد کاهش درصد تشکیل میوه در این تلاقی‌ها ناشی از وجود آلل‌های S₁ ناسازگاری مشترک در این ارقام و ژنوتیپ است که این آلل مشترک باعث بیان پروتئین‌های S-RNases در خامه و به دنبال آن باعث کالوزه شدن و توقف رشد لوله گرده در ۱/۳ بالایی خامه می‌شود که در نهایت نفوذ لوله گرده به تخمدان و درصد تشکیل میوه در این تلاقی‌ها کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج تحقیق حاضر نشان داد ترکیب تلاقی‌های ♂A9.7 × ♀تونو، ♀تونو × ♂A1.16 و ♂A1.16 × شکوفه دارای بیشترین سازگاری و تشکیل میوه در تلاقی‌های دی‌آلل بکار رفته در این تحقیق بود. بنابراین، می‌توان در کشت باغات بادام به‌منظور حصول حداکثر محصول از آن‌ها بهره برد.

منابع

- Rasouli, M. and Arzani, K. 2010. Effect of type pollen on the pollen tube growth and quantitative and qualitative cherry fruit cultivar Zard Daneshkadeh. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 4 (41), 309-318. (In farsi).
- Rasouli, M., Fatahi, R., Zamani, Z. & Imani, A. 2009. Study Compatibility and Effects of pollination cultivar "Supernova" with pollen different Variety in Almond. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 4 (40), 61-70. (In farsi).
- Zeinalabedini, M. 2007. Study of genetic relationships among some of almond cultivars and Prunus related species with using SSR markers. Ph. D. thesis in Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Iran. (In Farsi).
- Ortega E, Martinez-Garca P, Dicenta F, Boskovic R and Tobutt KR 2002. Study of self-compatibility in almond progenies from self-fertilization by florescence microscopy and stylar ribonuclease assay. *Acta Horticulturae*. 591: 229-232.
- Fallah, M., Sharafi, Y., Rasouli, M. & Imani, A. 2014. Compatibility relationships among some almond genotypes and cultivars using PCR. *Iranian Society of plant physiology*. 7- 9 May., Esfahan University, Esfahan, Iran, 3: 941-944 (in Farsi).
- Imani, A. & Talaie, A. R. 1998. Effect of culture medium type & temperature on pollen germination of almond in vitro. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 29, 79-87.
- Dicenta, F. & Garcia, J. E. 1993. Inheritance of self-compatibility in almond. *Heredity*, 70: 313-317.
- Dorostkar, M. 2005. Survey on the morphological properties of almond in Fars Province. *Proceedings of the IV International Symposium on Pistachios & Almonds*. Iranian Pistachio Research Institute, Rafsanjan, Iran. Page 325 (in Farsi).
- Imani, A. & Talaie, A. R. 1998. Effect of culture medium type & temperature on pollen germination of almond in vitro. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 29, 79-87.
- Martinez Gomez, P., Alonso, J. M., Lopez, M., Battle, I., Ortega, E., Sanchez-perez, R. & Dicenta, F. 2003. Identification of self-incompatibility alleles in almond & related Prunus species using PCR. *Theoretical and Applied Genetics*, 123: 397-401.
- Ortega E., Egea, J., Cánovas, J. A. & Dicenta, F. 2002. Pollen tube dynamics following half- and fully compatible pollinations in self-compatible almond cultivars. *Journal of Sexual Plant Reproduction*, 15, 47-51.
- Sanchez-Perez, R., Dicenta, F. & Martinez-Gomez, P. 2004. Identification of S-alleles in almond using multiplex PCR. *Euphytica*. 138: 263-269.
- Socias i Company, R. 1990. Breeding self-incompatibility almond. *Plant Breeding Review*, 8: 313-338.
- Socias i Company, R., Kester, D.E. & Bradley, M.V. 1976. Effect of temperature & genotype on pollen tube growth in some self-compatible & self-incompatible almond cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 101: 490-493.

Study of Compatibility Pollen and Pistil Almond Diallel Crosses using Fluorescent Microscopy and Percentage of Fruit Set

Mehdi Fallah^{1*}, Alli Imani², Yavar Sharafi³, Mousa Rasouli⁴

^{1,3} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

² Horticultural Departments of Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Iran

⁴ Department of Horticulture and Landscape engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

*Corresponding Author: fallah_mahdi@yahoo.com

Abstract

Almond is one of the most important *Prunus* species. Most almond cultivars and genotypes are self-incompatible and some of others are cross-incompatible. Therefore self-incompatible cultivars for pollination inoculated and production require compatible pollen other cultivars. In this regard the study of pollen and pistil compatibility of the three cultivars Tuono, Shokofeh, Sahand and promising three genotypes choice A1.16, A9.7, and A230 using method controlled pollination and pollen tube growth by fluorescence microscopy in laboratory and determine the fruit set percentage in the field. Crosses were performed based on flowering overlap among the five groups For Diallel crosses was performed. Results showed that crosses ♀ Tuono × ♂ A9.7 (60.52 % fruit set and 10.97 % pollen tube penetrate in the ovary), ♀ A9.7 × ♂ Tuono (66.67 % fruit set and 10.4 % pollen tube penetrate in the ovary) and ♀ Shokofeh × ♂ A1.16 (74.92 % fruit set and 14.40 % pollen tube penetrate in the ovary) the highest of compatibility on diallel crosses were used in mentioned groups. Furthermore crosses ♀ A230 × ♂ Tuono (30.9 % fruit set and 3 % pollen tube penetrate in the ovary) and ♀ Sahand × ♂ Tuono (29.2 % fruit set and 1.8 % pollen tube penetrate in the ovary) showed Least of compatibility on diallel crosses.

Keywords: Almond, Compatibility, Controlled Pollination, Fruit Set, Fluorescence Microscopy.

IrHC 2017
Tehran - Iran