



اثرات سمی مس روی جوانه‌زنی و رشد گرده چند رقم گیلاس

شرفی یاور^{۱*}، فنبری علیرضا^۱ و ناجی امیر محمد^۲

^۱گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۲گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

*y.sharafi@shahed.ac.ir

گیلاس یکی از مهمترین محصولات باغی ایران می‌باشد که بر اساس آمار سازمان خوار و بار جهانی با تولید ۲۴۱۱۱۷ تن در سال ۲۰۱۱ در رتبه سوم جهان می‌باشد. تشکیل میوه تحت تاثیر عوامل مختلف ژنتیکی درختان میوه و فیزیکیوشیمیایی محیط قرار می‌گیرد و در صورت بروز حالت نامناسب در هر کدام از عوامل یاد شده باعث کاهش گرده‌افشانی، تلقیح، تشکیل میوه و در نهایت عملکرد پایین باغ میوه به ویژه در باغ درختان میوه گیلاس می‌شود. جوانه‌زنی و رشد لوله گرده یک مرحله اساسی در باروری و تشکیل میوه ارقام مختلف گیلاس است. در باغات اطراف کلاتشهرها این پدیده ممکن است تحت تاثیر تنش عناصر سنگین ناشی از آلودگی محیط زیست قرار گیرد. در این تحقیق اثر عنصر سنگین مس با غلظت‌های (صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم‌درلیتر) روی جوانه‌زنی و رشد لوله گرده ده رقم مهم گیلاس موجود در تهران شامل سیاه مشهد، سیاه شیبستر، زرد دانشکده، تکدانه، صورتی لواسانات، استلا، لاپینز، ناپلئون، کلت و گیلاس سفید، با روش کشت درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که صفات مورد مطالعه تمامی ارقام بطور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت مس، ارقام و اثر متقابل آنها قرار گرفت و در همه ارقام هم درصد جوانه‌زنی و هم رشد لوله گرده بطور هماهنگ با افزایش غلظت مس در محیط کشت کاهش یافت. گرده‌های رقم Colt بیشتر از همه ارقام تحت تاثیر قرار گرفت.

کلمات کلیدی: گیلاس، جوانه‌زنی گرده، لوله گرده، عنصر سنگین، مس.

Effects of heavy metal copper on pollen germination and tube growth in some cherry (*Prunus avium*) cultivars

Sharafi Yavar^{1*}, Ghanbari Alireza¹, Naji Amir Mohammad²

¹Department of Horticultural Science, Shahed University, Tehran, Iran.

²Department of Agronomy and plant breeding, Shahed University, Tehran, Iran.

*y.sharafi@shahed.ac.ir

Sweet cherry is one of the most important crops of Iran which was ranked in 3rd with 225000 tons in 2011 in the world based on FAO report. Fruit set is affected by different environmental, biophysicochemical (biological, physical and chemical) factors. If abnormal conditions happen in one of these factors pollination, fertilization and fruit set and finally orchard yield will be decreases. Pollen germination and tube growth are the main factors of fruit set of sweet cherry. In polluted cities this phenomenon is affected by stresses of heavy metals. In this study the effects of heavy metal copper on pollen germination and tube growth of ten sweet cherries cultivars of Tehran were studied *in vitro*. The results showed that both traits were affected significantly by different levels of copper, cultivars and interaction of them. Pollen germination and tube growth of all cultivars were decreased along with the increase of concentrations of copper. In the concentrations 250 ppm pollen germination and tube growth reached to 0 in the most cultivars. copper showed the highest toxicity on pollen germination and tube growth. However, Colt cultivar showed highest sensitivity among the cultivars.

Key words: cherry, pollen germination, tube growth, heavy metal, copper.

مقدمه

گیلاس (*Prunus avium*) گیاهی دیپلوئید با $2n=16$ از خانواده Rosaceae و زیر تیره Porunoidea بوده و اکثر ارقام آن خودناسازگار یا دگرناسازگار می‌باشند. این گیاه یکی از مهمترین محصولات باغبانی ایران می‌باشد که بر اساس آمار سازمان



خوار و با جهانی با تولید ۲۲۵۰۰۰ تن در سال ۲۰۱۱ در رتبه سوم جهان می‌باشد (FAO, 2009). میوه این گیاه اغلب بصورت تازه‌خوری مورد مصرف قرار گرفته و پرورش آن در برخی مناطق کشور مهمترین عامل اقتصادی- معیشتی بسیاری از کشاورزان است. تشکیل میوه تحت تاثیر عوامل مختلف ژنتیکی درختان میوه و عوامل مختلف بیوفیزیولوژیکی محیط (بیولوژیکی، فیزیکی و شیمیایی) قرار می‌گیرد و در صورت بروز حالت غیر عادی در هر کدام از عوامل یاد شده باعث کاهش گرده‌افشانی، نلقیح، تشکیل میوه و در نهایت عملکرد پایین باغ میوه به ویژه در باغ درختان میوه خودناسازگار مثل گیلاس می‌شود. جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده یک مرحله اساسی در باروری و تشکیل میوه ارقام مختلف گیلاس است. به همین خاطر، یک محیط مساعد برای جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده این گیاهان لازم است که این محیط در شرایط *In vivo* روی کلاه خامه سازگار فراهم می‌شود. در سال‌های اخیر بدلیل گسترش مناطق مسکونی و صنعتی کلان‌شهرهای دنیا مثل تهران و نزدیک شدن آنها به زمین‌های کشاورزی بویژه باغاتی که قبلاً بخاطر تجارت و تفریح توسط کشاورزان و باغداران در نزدیکی‌های این شهرها احداث شده بودند. آلودگی‌های ناشی از سوخت فسیلی و ... که نتیجه آن ورود آلاینده‌های مختلف از جمله برخی عناصر سنگین مثل سرب، کادمیوم، نیکل، جیوه و ... به هوای این مناطق است و این مواد توسط باران و یا آبرونگی هوا روی زمین‌های کشاورزی و گیاهان مناطق نزدیک می‌نشینند. این عناصر از طرق مختلف مانند اثر بر اسیدیته باران و خاک، اثرات مضر و مخرب روی گیاهان مناطق مذکور می‌گذارند که در اکثر کشورهای دنیا اثرات آنها روی پدیده‌های اساسی در گیاهان، مورد مطالعه اساسی قرار نگرفته‌اند. بعنوان مثال کادمیوم از جمله فلزات سنگین می‌باشد که در گیاهان تنش اکسیداتیو ایجاد کرده و سمیت بالایی برای گیاهان دارد (Shkarleto, 1972, Paoletti 1992, Andrej, 1996, Cox, 1983, Demicco et al, 2006). Topdemir و Gur (۲۰۰۵)، اثرات برخی عناصر سنگین شامل کادمیوم، منس، سرب و جیوه را بر جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده در چند رقم از به *(Cydonia oblonga M.)* و آلوچه *(Prunus domestica L.)* بررسی کردند. در این تحقیق اثر عنصر سنگین مس در ۶ غلظت متفاوت (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ ppm) روی جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده ده رقم مهم گیلاس موجود در تهران با روش کشت درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

این بررسی در طول فصل گلدهی ارقام گیلاس انتخاب شده در سالهای ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ در آزمایشگاه‌های باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد تهران انجام گرفت. در این بررسی ابتدا ده رقم شامل سیاه مشهد، سیاه شبستر، زرد دانشکده، نکدانه، صورتی لواسانات، استلا، لاینز، ناپلئون، کلت و گیلاس سفید از درختان میوه گونه گیلاس که ترجیحاً در تهران و مناطق اطراف آن پرورش می‌یابند انتخاب و نشانه‌گذاری شدند. برای تهیه دانه‌گرده از شاخه‌های حاوی جوانه‌های گل کافی در مرحله بالونی شدن گل‌ها (C فلکینگر) از درختان مورد مطالعه انتخاب و در داخل سطل‌های حاوی آب به آزمایشگاه منتقل و یا بطور مستقیم جوانه‌هایی که گرده آنها آماده برای جمع‌آوری بودند در پاکت‌های کاغذی مخصوص به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از تورم کامل جوانه‌ها و ظاهر شدن گلبرگ‌ها، تمامی اعضای گل حذف شده و بساک‌ها از میله‌های پرچم‌ها جدا شده و در داخل پتری‌دیش‌های برچسب‌دار ریخته سپس بمدت ۴۸ ساعت در شرایط خشک و دمای معمولی اتاق جهت خشک شدن و آزاد شدن دانه‌های گرده از بساک نگهداری شدند. بعد از جمع‌آوری دانه‌های گرده، آنها داخل شیشه‌های کوچک آزمایشگاهی، داخل یخچال در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان اجرای آزمایشات و اعمال تیمارها در آزمایشگاه نگهداری شدند. درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و طول لوله‌گرده ارقام با کشت گرده‌های آنها در محیط کشت محتوی آگار، ساکارز و اسید بوریک که با عنصر کادمیوم (CuCl₂) در سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میکرومول تیمار شده بودند



مورد مطالعه قرار گرفت. بدینصورت که پس از تهیه محیط کشت و توزیع آن در پتری‌دیش‌ها، دانه‌های گرده بطور یکنواخت با استفاده از قلم مویی روی محیط کشت پخش شدند. بعد از ۲۴ ساعت فرایند جوانه‌زنی و رشد لوله گرده از طریق افزودن چند قطره کلروفرم متوقف گردید. محاسبه درصد جوانه‌زنی و طول لوله گرده با میکروسکوپ نوری مجهز به آکولر مدرج (بر اساس میکرومتر: μm) انجام گرفت. بدین منظور تعداد کل دانه گرده و دانه‌های گرده جوانه زده در ۵ میدان دید از هر نمونه (تکرار) بصورت تصادفی برآورد شد. جهت جلوگیری از اثر توده‌ای، شمارش دانه گرده و اندازه‌گیری طول لوله گرده فقط در میدان‌هایی صورت گرفت که دانه‌های گرده بطور یکنواخت توزیع شده و فقط دانه‌های گرده‌ای که حداقل طول لوله‌های آنها به اندازه قطر دانه گرده رشد کرده بودند بعنوان دانه گرده جوانه زده محسوب شدند. این بررسی بصورت آزمایش فاکتوریل (ده رقم و مس با شش سطح) در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام گرفت. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزارهای SAS و SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان دادند که جوانه‌زنی و رشد لوله گرده تمامی ارقام بطور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت مس، رقم و اثر متقابل آنها قرار گرفت. در همه ارقام هم درصد جوانه‌زنی و هم رشد لوله گرده بطور مرتب با افزایش غلظت مس در محیط کشت کاهش یافت ولی رابطه مستقیم بین صفات وجود نداشت (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف مس روی صفات گرده در ارقام مطالعه شده

غلظت‌های مختلف مس (ppm)	درصد جوانه‌زنی گرده	طول لوله گرده (μm)
شاهد	۸۷٫۹ ^a	۱۴۰٫۶ ^a
۵۰	۵۵٫۷ ^b	۹۰٫۹ ^b
۱۰۰	۲۹ ^c	۵۰٫۷ ^c
۱۵۰	۱۲٫۸ ^d	۲۰٫۸ ^d
۲۰۰	۷٫۲ ^e	۲۰٫۸ ^e
۲۵۰	۰٫۸ ^f	۲٫۸ ^f

حروف مشترک در ستونها نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین ارقام است.

جدول ۱ نشان می‌دهد که با افزایش غلظت مس از ۲۰۰ ppm به بالاتر جوانه‌زنی و رشد لوله گرده گرده به شدت کاهش و تقریباً به صفر نزدیک شده است. بویژه رشد لوله گرده‌هایی که جوانه زده‌اند به بسیار کاهش یافته است و این نشان می‌دهد که در صورت آلودگی بالای هوای باغات نزدیک کلانشهرها به این عنصر سنگین درصد لقاح و تشکیل میوه به شدت کاهش می‌یابد که باید مورد توجه باغداران، مسئولین محیط زیست قرار گیرد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف مس روی صفات گرده در ارقام مطالعه شده

رقم	درصد جوانه‌زنی گرده	طول لوله گرده (μm)
صورتی لوسانات	۲۹٫۹ ^c	۵٫۹۳ ^f
گیلاس سفید	۳۳٫۰ ^b	۷٫۱۰۳ ^e
زرد دانسکده	۳۰٫۹ ^b	۷٫۴۸ ^d
سیاه شبنر	۲۹٫۸ ^b	۴۰٫۸ ^c



۵۰۶ ^d	۳۱/۹ ^{ab}	سیاه مشهد
۸۰۱۴ ^c	۲۹/۳ ^c	Napleon
۴/۶۱ ^h	۲۹/۸ ^c	Lapins
۸۰۷۱ ^b	۳۱/۹ ^{ab}	Estella
۳/۲۶ ^g	۳۲/۸ ^{ab}	Kolt
۹/۲۳ ^a	۲۹/۸ ^{bc}	تکدانه

حروف مشترک در ستونها نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین ارقام است.

Topdemir و Gur (۲۰۰۵ و ۲۰۰۸)، اثرات برخی عناصر سنگین شامل کادمیوم، مس، سرب و جیوه را بر جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده در چند رقم از به، آلوچه و زردآلو در شرایط درون شیشه‌ای مطالعه و نتایج مشابهی را گزارش کردند. که نشان می‌داد نوع عنصر، گونه‌ها و ارقام اثرات معنی‌داری در میزان اثر عناصر روی جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده در گیاهان مورد مطالعه آنها داشته است. Munzuroglu و همکاران (۲۰۰۰ و ۲۰۰۳)، نیز در رقم Golden سیب (*Malus silvestris* Mille.) با بررسی چند عنصر سنگین با غلظت‌های مختلف نتایج مشابه گزارش کردند. عناصر سنگین زمان چرخه تقسیمات میتوزی سلول‌ها را طولانی‌تر می‌کنند. همچنین، خاصیت پلاستیسیته دیواره سلول و بزرگ شدن آنرا کاهش و از این طریق حالت غیریکنواختی در مورفولوژی و ساختار گرده ایجاد می‌کنند. این پدیده می‌تواند با برهمکنش یونهای حاصل از عناصر سنگین با ترکیبات دیواره‌گرده توجه شود که دیواره‌گرده حاوی پکتین و کالوز زیاد ولی سلولز کمتر است در حالیکه در سلول‌های اندام‌های دیگر گیاهان سلولز به مقدار زیادی وجود دارد به همین خاطر در اثر سمیت عناصر سنگین رشد نرمال دیواره متوقف شده قطر و ضخامت سلول افزایش می‌یابد.

منابع

- 1- Andrej K. (1996). Development and viability of silver fir pollen in air- polluted and non- polluted habitats in Slovakia. *Forest Genetic*, 3(3): 147- 151.
- 2- Cox RM. (1983). Sensitivity of forest plant reproduction to long range transported air pollutants: in *vitro* sensitivity of pollen to simulated acid rain. *New Phytol.* 95:269-276.
- 3- Demicco V, Scala M and Aronne G. (2006). Effects of simulated microgravity on male gametophyte of *Prunus*, *Pyrus* and *Brasica* species. *Protoplasma*. 228; 121- 126.
- 4- FAOSTAT (2009). Food and agriculture organization of the United Nations. FAO Statistics Division. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>
- 5- Gür N and Topdemir A. (2008). Effects of some heavy metals on in *vitro* pollen germination and tube growth of apricot (*Armenica vulgaris* Lam.) and cherry (*Cerasus avium* L.). *World Applied Sciences Journal*. 4 (2): 195-198.
- 6- Gur, N. and A. Topdemir. (2005). Effects of heavy metals (Cd⁺⁺, Cu⁺⁺, Pb⁺⁺, Hg⁺⁺) on pollen germination and tube growth of quince (*Cydonia oblonga* M.) and plum (*Prunus domestica* L.). *Fresenius, Environmental Bulletin*, 14: 36-39.
- 7- Munzuroglu O, Obek E, Geckil H. (2003). Effects of simulated acid rain on the pollen germination and pollen tube growth of apple (*Malus silvestris* Miller cv. Golden). *Acta Biologica Hungarica*. 54 (1): 95-103.
- 8- Munzuroglu O. and Gur N. (2000). Effects of heavy metals on pollen germination and tube growth of apples (*Malus silvestris* Miller cv. Golden). *Turk J. Biol.*, 24: 677-684.
- 9- Paoletti E. (1992). Effects of acidity and detergent on in *vitro* pollen germination and tube growth in forest tree species. *Tree phisiol.* 10: 357-366.
- 10- Shkarleto D. (1972). Influence of industrial pollution of atmosphere and soil on the size of pollen grains of the Scots pine. *Ekologija* 1:3-57.