

بررسی سازگاری بین برخی رقم‌ها و نژادگان‌های آلبالو در ایران^۱

Investigation of the Compatibility among some Sour Cherry Cultivars and Genotypes in Iran

جواد صباغ پور هریس، یاور شرفی* و ناصر بوذری^۲

چکیده

آلبالو (*Prunus cerasus* L.) از مهم‌ترین میوه‌های هسته‌دار ایران است که از نظر تولید رتبه‌های سوم تا ششم دنیا را دارد. بیشتر رقم‌ها و نژادگان‌های آلبالو خودسازگار بوده ولی به‌تازگی رقم‌های خودناسازگار گزارش می‌شوند. به‌دلیل دگرچهارگان بودن آلبالو و پیچیده‌تر شدن تفرق خودناسازگاری در آن، بررسی‌های کمتری در ارتباط با سازگاری رقم‌های آن به‌ویژه در ایران صورت گرفته است. در این بررسی روابط (نا)سازگاری برخی رقم‌ها و نژادگان‌های برتر آلبالو، با استفاده از روش‌های گرده‌افشانی کنترل شده و ردیابی نفوذ لوله‌گرده در خامه با میکروسکوپ فلورسنت، بررسی شد. گروه اول شامل سه رقم خودناسازگار S.I.209، S.I.301 و E.J.175 به‌عنوان گرده‌گیرنده و شش نژادگان برتر K.110، T.145، T.140، K.202، M.171 و M.150 به‌عنوان گرده‌زا انتخاب شدند. گروه دوم شامل نژادگان‌های جدید T.305، T.207، T.125، K.205، K.105، A.10 و A.100 بودند که هم خودگرده‌افشانی و هم دگرگرده‌افشانی شدند. ترکیب تلاقی‌ها براساس همپوشانی گلدهی انجام شد و پس از گرده‌افشانی کنترل شده درصد تشکیل میوه بررسی و سپس روند رشد لوله‌گرده در خامه تلاقی‌ها با میکروسکوپ فلورسنت بررسی گردید. نتیجه‌ها نشان داد که در تلاقی‌های دگرگرده‌افشانی، نسبت به تلاقی‌های خودگرده‌افشانی شمار لوله‌گرده در همه قسمت‌های خامه بیشتر بود. به‌طورکلی دگرناسازگاری بین رقم‌ها و نژادگان‌های مورد بررسی وجود نداشت. **واژه‌های کلیدی:** آلبالو، خودناسازگاری، گرده‌افشانی، میکروسکوپ فلورسنت.

مقدمه

آلبالو (*Prunus cerasus* L.) یکی از مهم‌ترین گونه‌های هسته‌دار از تیره Rosaceae است که دارای ترکیب‌های با ارزش غذایی بسیار بالایی می‌باشد. ایران در بین کشورهای تولیدکننده آلبالو در جهان در سال‌های مختلف رتبه‌های سوم تا ششم دنیا را دارا بوده است (۴). ایران تنوع به‌نسبت بالایی از درختان آلبالو و ژرم‌پلاسم غنی از منابع ژنتیکی این گونه دارد. بیشتر رقم‌های آلبالو خودسازگار بوده ولی امروزه رقم‌های خودناسازگار آن گزارش شده‌اند. بنابراین، برای گرده‌افشانی، باروری و تولید محصول تجاری به دانه‌گرده سازگار با مادگی خود نیاز دارد (۵، ۶، ۱۹، ۲۳). به‌دلیل دگرچهارگان بودن آلبالو که باعث پیچیده‌تر شدن تفرق صفت خودناسازگاری در نتاج می‌شود، بررسی‌های کمتری در ارتباط با روابط سازگاری رقم‌ها و نژادگان‌های آن به‌ویژه در ایران صورت گرفته است (۱۴، ۱۸).

شناخت کافی از سازگاری بین گرده و مادگی رقم‌های مختلف درختان میوه خودناسازگار، قبل از احداث باغ یکی از جنبه‌های بسیار مهم در باردهی است و در گزینش درختان گرده‌زای مناسب برای رقم‌های جدید حاصل از برنامه‌های به‌نژادی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد، چون بعد از احداث باغ حل مشکلات مربوط به ناسازگاری بسیار سخت و یا غیر ممکن می‌باشد (۲، ۳).

تاریخ پذیرش: ۹۸/۸/۱۳

۱- تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۲۴

۲- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد و دانشیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (y.sharafi@shahed.ac.ir)

خودناسازگاری به معنی عدم توانایی گیاه در تولید بذر زنده پس از خودگرده‌افشانی است که بیشتر در دو حالت گامتوفیتیک و اسپروفیتیک دیده می‌شود. در نوع گامتوفیتیک، دانه گرده از لحاظ آلل‌های ناسازگاری تک گان و بافت خامه دوگان بوده و رشد لوله گرده در قسمت‌های مختلف خامه متوقف می‌گردد. خودناسازگاری موجود در رقم‌های مختلف آلبالو و دیگر گونه‌های جنس *Prunus* از نوع گامتوفیتیک است که با یک مکان ژنی کنترل می‌شود و دارای آلل‌های متعدد می‌باشد (۸، ۹، ۱۹، ۲۰، ۲۵).

برای شناسایی سازگاری بین رقم‌ها و نژادگان‌ها از روش‌های گرده‌افشانی کنترل شده در مزرعه و محاسبه درصد میوه‌بندی، گرده‌افشانی کنترل شده در آزمایشگاه و بررسی نفوذ لوله گرده در خامه با میکروسکوپ فلورسنت و همچنین روش‌های مختلف مولکولی (۱۵، ۱۶) استفاده می‌شود. برای ارزیابی وضعیت سازگاری یک رقم یا نژادگان خاص و انتخاب بهترین گرده‌زا برای آن، گرده‌افشانی کنترل شده در شرایط مزرعه و محاسبه درصد میوه‌بندی چند هفته پس از گرده‌افشانی، به عنوان یک روش متداول مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین، در شرایط آزمایشگاهی با ایجاد شرایط کنترل شده از لحاظ دما، رطوبت و نورگاه و ردیابی نفوذ لوله گرده در درون خامه با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت، می‌توان سازگاری گرده با مادگی را در رقم‌های مختلف بررسی کرد (۱، ۱۳). از آنجا که چنین آزمایش‌هایی کمتر زیر تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند، نسبت به روش قبلی دارای دقت بیشتری بوده و به زمان کمتری نیاز دارند، ولی وضعیت باردهی و ویژگی‌های میوه در این روش قابل پیگیری نیست (۱، ۳، ۹، ۱۸، ۲۱، ۲۲، ۲۵).

با توجه به دگرچهارگان بودن رقم‌ها و نژادگان‌های آلبالو سیستم خودناسازگاری آن بسیار پیچیده‌تر از گیاهان دوگان می‌باشد، زیرا چندگان باعث از بین رفتن خودناسازگاری می‌شود و در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان خودناسازگار به‌عنوان یکی از روش‌های غلبه بر خودناسازگاری مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین، در حالت چندگان ممکن است برخی از آلل‌های ناسازگاری غیرفعال شوند و یا به خاطر جهش به‌صورت سازگار بیان شوند. بنابراین، با احتساب متفاوت بودن هر چهار آلل ناسازگاری، گرده‌های آلبالو به‌صورت دوگان و با شش نژادگان ظاهر می‌شوند که در صورت فعال بودن همه آلل‌ها خودناسازگاری ۱۰۰ درصد خواهد بود، اما در صورت غیرفعال بودن یک یا چند آلل حالت‌های مختلفی ایجاد می‌شوند. در حالت چهارگانی دانه‌های گرده شش نژادگان تولید می‌کنند. بنابراین، برخلاف حالت دوگان که در صورت یکسان نبودن فقط یک آلل گرده با مادگی ۵۰٪ گرده‌ها منجر به باروری می‌شوند در حالت چهارگانی در صورت غیرفعال بودن هر دو آلل (در گرده و مادگی) تنها یک ششم گرده‌ها قدرت باروری پیدا می‌کنند (۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۷، ۲۱، ۲۳).

تا به حال در مورد شناسایی روابط سازگاری بین رقم‌ها و نژادگان‌های آلبالو پژوهش‌های معدودی صورت گرفته و گروه‌های خودسازگار و خودناسازگار شناسایی شده‌اند (۷، ۱۲، ۱۷). اولین بار Lansari و Lezzoni (۹) با بررسی میکروسکوپی، ناسازگاری رقم‌های تجموکورکا و کریسانا^۲ آلبالو را نشان دادند. همچنین، برای اولین بار حضور S-ریبونوکلئازها در خامه رقم‌های آلبالو توسط Yamane و همکاران (۲۴) گزارش شد. در پژوهشی با بررسی میکروسکوپی و با استفاده از الکتروفورز پروتئین‌های خامه، ناسازگاری رقم‌های چهارگان آلبالو شامل 'Erdi Botermo B'، 'Cac`anski`anskiRubin'، 'Korod' and 'Ujfehertoi' و 'Furtod' نشان داده شد (۱۹). در پژوهش مشابهی، Tsukamoto و همکاران (۲۰، ۲۱، ۲۲) توانستند برخی آلل‌های ناسازگاری غیرفعال در برخی رقم‌های آلبالو را شناسایی و توالی‌یابی نمایند. همچنین، Nathanael و همکاران (۱۴) در پژوهشی مشابه توانستند برخی آلل‌های ناسازگاری غیرفعال در برخی رقم‌های آلبالو را شناسایی و توالی‌یابی نمایند. در پژوهشی دیگر، Lisek و همکاران (۱۰) توانستند آلل‌های ناسازگاری رقم‌های اروپایی آلبالو را شناسایی نمایند.

هدف پژوهش حاضر، تعیین روابط سازگاری گرده با مادگی چند رقم و نژادگان برتر جمع‌آوری شده از نقاط مختلف ایران با استفاده از گرده‌افشانی کنترل شده در مزرعه و گرده‌افشانی کنترل شده در آزمایشگاه بود تا به‌طور دقیق وضعیت خود(نا)سازگاری و دگر(نا)سازگاری نژادگان‌های مورد بررسی برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی و یا در احداث باغ‌های آلبالو در کشور مشخص شود.

مواد و روش‌ها

ماده‌های گیاهی

پژوهش حاضر در دانشگاه شاهد تهران و ایستگاه تحقیقات باغبانی مشکین دشت کرج، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه علوم باغبانی، در سال ۱۳۹۶ انجام گرفت. به‌طور کلی ماده‌های گیاهی شامل سه رقم و ۱۱ نژادگان برتر بود که بر اساس همپوشانی زمان گلدهی به دو گروه تقسیم شدند. سن درختان ده سال و با فاصله‌های سه در چهار متر در خاک لومی شنی کاشته شده بودند. گروه اول، دربرگیرنده سه رقم آلبالو به نام‌های S.I. 209، S.I.301، و E.J.175 که خودناسازگاری آن‌ها در موسسه اصلاح و تولید نهال و بذر کرج پیش‌تر اثبات شده است (به عنوان والد مادر) و هم‌چنین، شش نژادگان جدید آلبالو حاصل از یک برنامه به‌نژادی در همان موسسه، به نام‌های K110، T145، T140، K202، M171 و M150 بودند. گروه دوم شامل نژادگان‌های برتر جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان‌های البرز، تهران، خراسان، آذربایجان شرقی و غربی، زنجان و قزوین به نام‌های T305، T207، T125، K205، K202، K105، A10 و A100 بودند. دلیل انتخاب این رقم‌ها و نژادگان‌ها، عملکرد بالای همه آن‌ها بود. اگرچه، تک‌تک آن‌ها دارای ویژگی‌های منحصر به خودشان نیز بودند. ترکیب تلاقی‌ها بر اساس همپوشانی زمان گلدهی انتخاب شد که در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- گروه‌بندی تلاقی‌ها بر اساس همزمانی گلدهی.

Table 1. Crosses grouping based on synchronized blooming time.

تلاقی‌های گروه دوم Group 2 Crosses	تلاقی‌های گروه اول Group 1 Crosses
T207 × T207	S.I.209 × K110
T305 × T305	S.I.301 × T145
K205 × K205	E.J.175 × M150
T125 × T125	K110 × K110
K202 × K202	T145 × T145
K105 × K105	T140 × T140
A10 × A100	K202 × M171
A100 × T207	M171 × M171
K205 × T207	M150 × M150
K105 × T305	M171 × M150

تهیه دانه گرده، آزمون تنژگی و انجام تلاقی‌ها

برای جمع‌آوری دانه گرده، گل‌های با کیفیت بالا در مرحله بالونی انتخاب شدند. پرچم‌های گل‌ها با پنس جدا و به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت برای خشک شدن در دمای ۲۲ درجه سلسیوس روی کاغذهای سلفون و در محل تاریک قرار گرفتند. سپس دانه‌های گرده به شیشه‌های سترون با درپوش پنبه‌ای انتقال یافته و تا انجام عمل گرده‌افشانی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند (۱۸). برای اطمینان از قدرت تنژگی دانه‌های گرده جمع‌آوری شده، مقداری از آن‌ها در محیط کشت جامد کشت شدند. بدین منظور از محیط کشت جامد حاوی ۱۵٪ ساکاروز، ۱٪ آگار و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بوریک اسید استفاده شد. پس از کشت دانه‌های گرده، ظرف‌های کشت به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. بعد از ۲۴ ساعت، دانه‌های گرده کشت شده با بینوکولر (x 10 Olympiacus) مورد شمارش قرار گرفتند و سپس درصد تنژگی آن‌ها در هر پتری‌دیش به‌عنوان یک تکرار و پنج میدان دید در هر کدام محاسبه شد. با توجه به دگرچهارگانی آلبالو که عامل از بین رفتن خودناسازگاری گامتوفیتیک بوده و بیشتر رقم‌های آلبالو به‌صورت کامل یا قسمتی خودبارور هستند، لازم بود که همه گیاهان مادری اخته شوند. بدین منظور چهار شاخه مناسب در چهار جهت اصلی شمال، جنوب، شرق و غرب درخت انتخاب شدند. گل‌های اخته شده به‌وسیله کیسه‌های پارچه‌ای ململ به ابعاد ۷۰×۵۰ سانتی‌متری پوشانیده شدند. پس از آخرین گرده‌افشانی که در دمای ۱۸±۲ درجه سلسیوس صورت گرفت، شمار گل‌های گرده‌افشانی شده در هر شاخه ثبت و کیسه‌ها دوباره روی شاخه‌ها قرار گرفتند (۱۷).

تعیین درصد تشکیل میوه

همچنین، به منظور تعیین درصد تشکیل میوه ریزش گل‌های گرده‌افشانی شده در سه نوبت بعد از عمل گرده‌افشانی داده‌ها ثبت گردید. بدین ترتیب که کیسه‌ها باز شده و گل‌های گرده‌افشانی شده به‌طور جداگانه در هر رقم شمارش شدند. با توجه به شمار گل‌های گرده‌افشانی شده در هر شاخه، در هر شمارش درصد میوه‌های تشکیل شده ملاک واکاوی آماری قرار گرفت. مطابق شکل ۱، شمارش میوه‌ها در سه نوبت بعد از گرده‌افشانی انجام شد. شمارش اول ۱۶ روز، شمارش دوم ۴۲ روز و شمارش سوم ۹۰ روز پس از گرده‌افشانی انجام گرفت (۱۷).



Fig. 1. Selecting shoots, bagging in bud swelling stage, emasculation, and pollination of flowers.

شکل ۱- انتخاب شاخه‌ها و گذاشتن کیسه در مرحله تورم جوانه‌ها، اخته کردن و گرده‌افشانی گل‌ها.

بررسی فلورسنس میکروسکوپی

در این بخش نیز تلاقی‌ها مثل روش قبلی صورت گرفت و برای بررسی‌های میکروسکوپی، مادگی‌های تلاقی داده شده در مزرعه پنج روز پس از گرده‌افشانی از شاخه‌ها جدا و به آزمایشگاه منتقل شده و در محلول فیکساتور (FAA) شامل ۵٪ فرمالدئید ۵٪، ۵٪ اسید استیک گلاسیال و ۹۰٪ الکل اتیلیک ۷۰٪ تثبیت شدند (۱۶، ۱۷). در مرحله بعدی مادگی‌ها از محلول فیکساتور خارج شده و سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند و سپس در داخل ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سولفاید سدیم ۵٪ قرار گرفتند. در مرحله بعد به منظور نرم شدن بافت مادگی از محلول هیدروکسید سدیم ۸ نرمال استفاده شد. سپس رنگ‌آمیزی مادگی‌ها با محلول ۵٪ آنلین‌بلو به مدت ۱۲ ساعت انجام گرفت. مادگی‌ها از محلول سولفاید سدیم ۵٪ خارج شده و سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند و بعد به منظور رنگ‌آمیزی لوله‌های گرده به مدت ۱۰ تا ۱۵ ساعت داخل محلول رنگی قرار گرفتند. لازم به بیان است که برای جلوگیری از نفوذ نور به داخل، پیرامون ویال‌های شیشه‌ای حاوی مادگی‌ها با فویل آلومینیومی پوشانده شده و در یخچال قرار گرفتند.

در مرحله بعدی مادگی‌های خارج شده از ویال‌های شیشه‌ای سه بار با آب مقطر شستشو داده شده و سپس زیر بینوکولار قرار گرفتند. ابتدا با یک پنس باریک زوائد و کرک‌های موجود روی خامه و تخمدان پاک شدند، خامه‌ها روی لام قرار گرفته و یک قطره گلیسرین برای بهبود کیفیت نمونه‌ها به آن افزوده شد و سپس لامل روی آن قرار داده شده و با اندکی فشار با انگشت نمونه‌ها له شده و آماده مشاهده با میکروسکوپ گردید (۱۷). رشد لوله گرده رقم‌های مختلف با میکروسکوپ فلورسنس مدل المپیاکوس در چهار قسمت شامل سطح کلاله، ابتدای خامه، وسط خامه و انتهای خامه و در نهایت ورودی تخمدان مورد بررسی قرار گرفتند. زیر این شرایط، کالوز به رنگ زرد روشن تا زرد مایل به سبز دیده شد، در حالی که بافت زمینه به رنگ خاکستری تا آبی بود. میانگین تنگی دانه گرده در سطح کلاله و نفوذ لوله گرده در قسمت بالای خامه، قسمت میانی خامه و انتهای خامه ثبت شد و در تلاقی‌های مختلف رقم‌ها و نژادگان‌ها مقایسه شد. شمار دانه گرده تنزیده در سطح کلاله و همچنین، شمار لوله گرده رشد کرده در طول خامه و رسیده به انتهای خامه و درون تخمدان، ثبت گردید. برای این منظور دستکم در ۱۰ مادگی گرده‌افشانی شده شمار لوله گرده در قسمت‌های مختلف خامه و تخمدان یادداشت گردید (شکل ۲).

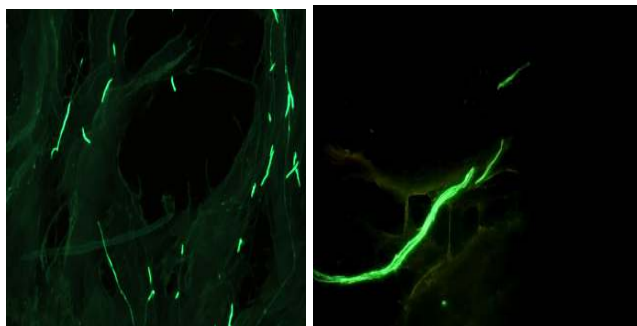


Fig. 2. Observing pollen tube penetration toward ovary by florescence microscope.

شکل ۲- مشاهده روند رشد لوله‌های گرده در مادگی‌ها با میکروسکوپ فلورسنت.

طرح آزمایشی

تلاقی‌ها بر اساس همپوشانی گلدهی رقم‌ها و نژادگان‌ها به دو گروه تقسیم شدند و در هر گروه ۱۰ تلاقی صورت گرفت. در بخش باغ طرح آزمایشی به کار رفته طرح به‌طور کامل تصادفی با ۱۰ تیمار (ده ترکیب تلاقی) با سه تکرار بود. هم‌چنین، طرح آماری بخش آزمایشگاه، طرح به‌طور کامل تصادفی با ده تیمار (ده ترکیب تلاقی) در ده تکرار (دستکم ده مادگی از هر تلاقی) بود. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS V 9.4 مورد واکاوی آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد و ضرایب همبستگی ویژگی‌ها از نوع پیرسون محاسبه گردید.

نتایج

درصد تشکیل میوه در باغ

نتیجه‌های مربوط به تلاقی‌های گروه اول

اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین تلاقی‌های مختلف از نظر درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود داشت. مقایسه میانگین درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی در شکل ۳ نشان داد که بیشترین (۷۳٪) و کمترین (صفر) درصد تشکیل میوه ثانویه به ترتیب مربوط به تلاقی‌های SL246*K110 و M171*M150 بود. بیشترین (۶۲٪) و کمترین (۰٪) درصد تشکیل میوه نهایی در تلاقی‌های SL246*K110 و M171*M150 مشاهده گردید.

جدول ضرایب همبستگی مربوط به تلاقی‌های گروه اول در جدول ۲ نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین شمار گل‌های گرده‌افشانی شده با درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی وجود داشت و بیشترین همبستگی مثبت (۰/۶۹) بین درصد تشکیل میوه اولیه و درصد تشکیل میوه ثانویه وجود داشت.

جدول ۲- ضرایب همبستگی درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های گروه اول.

Table 2. Correlation among fruit set percentage in crosses of group one.

	شمار گل Flower number	اولیه Primary	ثانویه Secondary
اولیه Primary	.65**		
ثانویه Secondary	.36*	.69**	
نهایی Final	.54**	.34**	.28*

** and * ; Significant in 1% and 5%, respectively.

** و * : به ترتیب معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد.

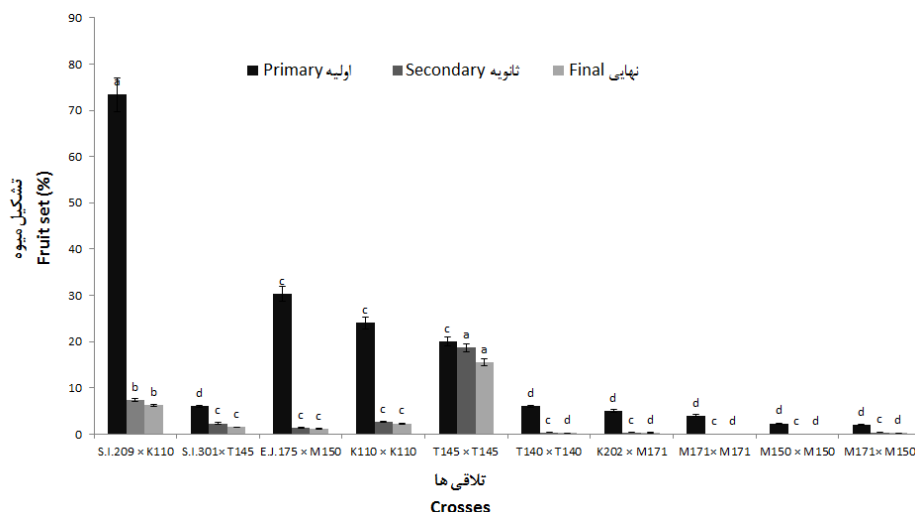


Fig. 3. Means of primary, secondary and final fruit set in crosses of group one. Means in each column with similar letters are not significantly different at 1% level of probability.

شکل ۳- میانگین درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی در تلاقی‌های گروه اول. حرف‌های مشترک ستون‌ها نشانگر تفاوت غیر معنی‌دار آن‌ها در سطح احتمال یک درصد است.

نتیجه‌های مربوط به تلاقی‌های گروه دوم

اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین تلاقی‌های مختلف گروه دوم نیز از نظر درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. مقایسه میانگین درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی در شکل ۴ نشان داد که بیشترین (۷/۳۳) و کمترین (صفر) درصد تشکیل میوه ثانویه به ترتیب مربوط به تلاقی‌های T207*T207 و K105*T305 بود. بیشترین (۶/۲۰) و کمترین (صفر) درصد تشکیل میوه نهایی به ترتیب در تلاقی‌های T207*T207 و K105*T305 مشاهده گردید.

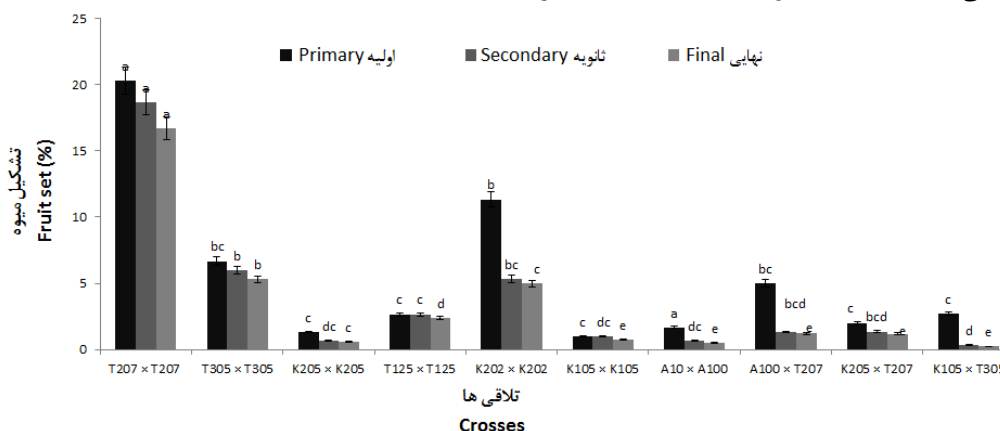


Fig. 4. Means of primary, secondary and final fruit set in crosses of group two. Means in each column with similar letters are not significantly different at 1% level of probability.

شکل ۴- میانگین درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی در تلاقی‌های گروه دوم. حرف‌های مشترک ستون‌ها نشانگر تفاوت غیر معنی‌دار آن‌ها در سطح احتمال یک درصد است.

جدول ضرایب همبستگی مربوط به تلاقی‌های گروه اول (جدول ۳) نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین شمار گل‌های گرده‌افشانی شده با درصد تشکیل میوه اولیه، ثانویه و نهایی وجود داشت و بیشترین همبستگی (۰/۹۰) بین درصد تشکیل میوه اولیه و درصد تشکیل میوه ثانویه وجود داشت.

جدول ۳- ضرایب همبستگی درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های گروه دوم.

Table 3. Correlation among fruit set percentages in crosses of group two.

	شمار گل Flower number	اولیه Primary	ثانویه Secondary
اولیه Primary	.66**		
ثانویه Secondary	.68**	.90**	
نهایی Final	.74**	.69**	.57**

**; Significant in 1%.

** : معنی‌دار در سطح یک درصد.

نتیجه‌های مربوط به بررسی‌های میکروسکوپی

نتیجه‌های تلاقی‌های گروه اول

اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بین تلاقی‌های مختلف از نظر شمار گرده در سطح کلالة، درصد تنژگی گرده در سطح کلالة، شمار لوله گرده در ابتدا، وسط و انتهای خامه و درون تخمدان، تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. مقایسه میانگین شمار گرده در سطح کلالة، درصد تنژگی گرده در سطح کلالة، در شکل ۵ نشان داد که بیشترین (۷۳/۳۳) و کمترین (۲/۰۰) درصد تشکیل میوه اولیه به ترتیب مربوط به تلاقی‌های M150*M171 و SL246*K110 بود. همچنین، بیشترین (۷/۳۳) و کمترین (صفر) درصد تشکیل میوه ثانویه به ترتیب مربوط به تلاقی‌های M150*M171 و SL246*K110 بود. بیشترین (۶/۲۰) و کمترین (صفر) درصد تشکیل میوه نهایی به ترتیب در تلاقی‌های M150*M171 و SL246*K110 مشاهده گردید.

جدول ضرایب همبستگی جدول ۴ بین درصد تنژگی دانه گرده در سطح کلالة و شمار لوله گرده در قسمت‌های مختلف خامه و تخمدان نشان داد که همبستگی مثبت و بالایی بین آن‌ها وجود داشت و بیشترین همبستگی بین شمار گرده در سطح کلالة و درصد تنژگی گرده در سطح کلالة (۰/۹۵) وجود داشت و کمترین همبستگی (۰/۳۸) بین درصد تنژگی گرده در سطح کلالة و شمار لوله گرده در وسط خامه وجود داشت. به عبارتی، شمار لوله گرده در وسط تخمدان بیشترین اثر در سازگاری گرده با مادگی را دارد.

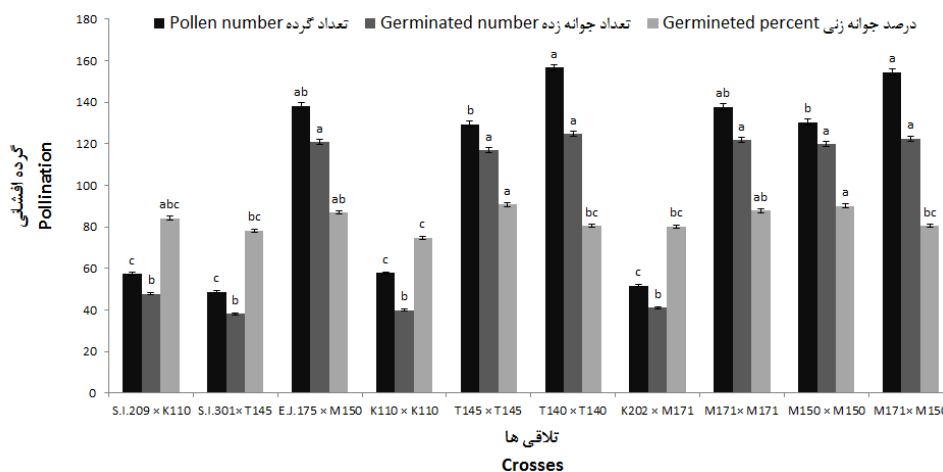


Fig. 5. Means of pollen number and germination percentage on the pistil's surface in crosses of group one. Means in each column with similar letters are not significantly different at 1% level of probability.

شکل ۵- میانگین شمار و درصد تنژگی گرده در سطح کلالة تلاقی‌های گروه اول. حرف‌های مشترک ستون‌ها نشانگر تفاوت غیر معنی‌دار آن‌ها در سطح احتمال یک درصد است.

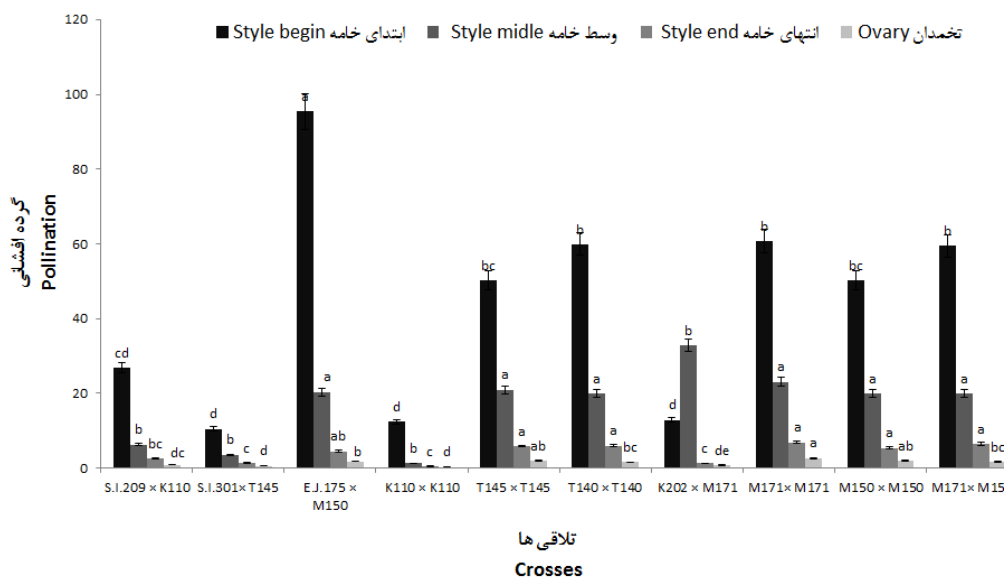


Fig. 6. Means of pollen germination percentage and tube number on the pistils in crosses of group one. Means in each column with similar letters are not significantly different at 1% level of probability.

شکل ۶- میانگین تعداد و درصد تنزگی گرده در سطح کلاله تلاقی‌های گروه اول. حرف‌های مشترک ستون‌ها نشانگر تفاوت غیر معنی‌دار آن‌ها در سطح احتمال یک درصد است.

جدول ۴- ضرایب همبستگی بین تعداد و درصد جوانه‌زنی گرده در سطح کلاله با تعداد لوله گرده در قسمت‌های مختلف خامه و تخمدان در تلاقی‌های گروه اول.

Table 4. Correlation among pollen number and germination percentages on the pitiles and tube numbers in different parts of the styles and ovary in crosses of group one.

	شمار گرده Pollen number	درصد تنزگی Germination percentage	ابتدای خامه Style begin	وسط خامه Style middle	انتهای خامه Style end
درصد تنزگی Germination percentage	.68**				
ابتدای خامه Style begin	.71**	.31**			
وسط خامه Style middle	.75**	.31**	.78**		
انتهای خامه Style end	.65**	.26**	.79**	.80**	
تخمدان Ovary	.49**	.42**	.61**	.81**	.79**

** : معنی‌دار در سطح یک درصد.

** : Significant in 1% .

نتیجه‌های تلاقی‌های گروه دوم

اطلاعات مربوط به مقایسه میانگین‌ها در شکل‌های ۷ و ۸ نشان داد که بین تلاقی‌های مختلف گروه دوم نیز از نظر شمار گرده در سطح کلاله، درصد تنزگی گرده در سطح کلاله، شمار لوله گرده در ابتدا، وسط و انتهای خامه و درون تخمدان، تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت.

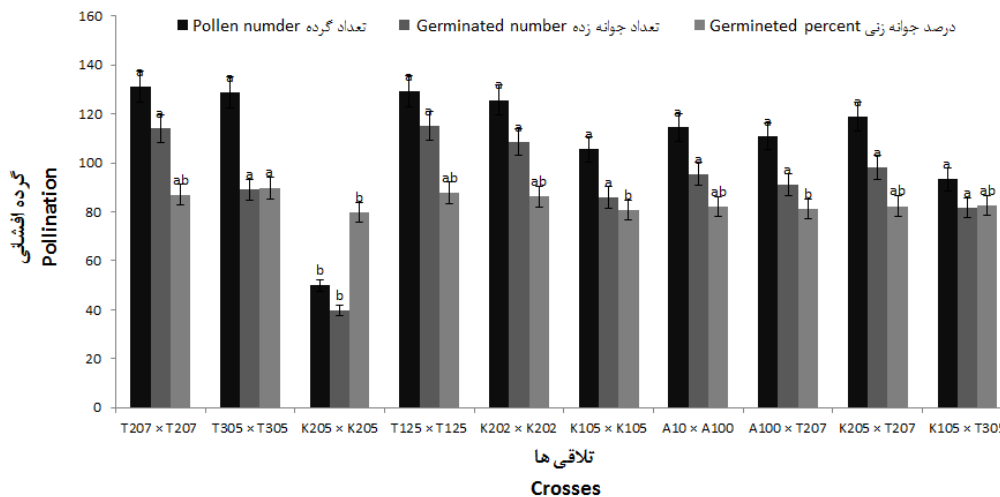


Fig. 7. Means of pollen germination percentage and tube number on the pistils in crosses of group two. Means in each column with similar letters are not significantly different at 1% level of probability.

شکل ۷- میانگین تعداد و درصد تنزگی گرده در سطح کلاله تلاقی‌های گروه دوم. حرف‌های مشترک ستون‌ها نشانگر تفاوت غیر معنی‌دار آن‌ها در سطح احتمال یک درصد است.

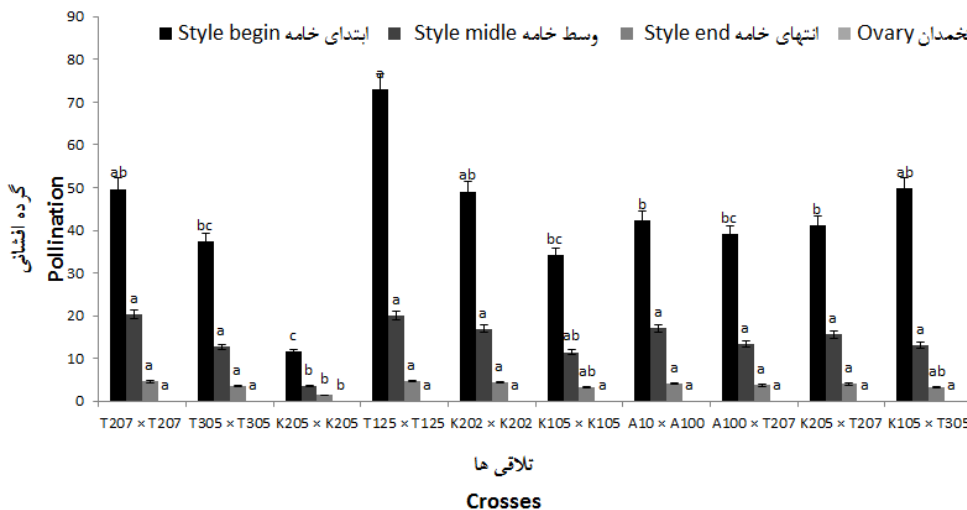


Fig. 8. Means of pollen tube number in different parts of the styles in crosses of group two. Means in each column with similar letters are not significantly different at 1% level of probability.

شکل ۸- میانگین تعداد لوله گرده در قسمت‌های مختلف خامه در تلاقی‌های گروه دوم. حرف‌های مشترک ستون‌ها نشانگر تفاوت غیر معنی‌دار آن‌ها در سطح احتمال یک درصد است.

ضرایب همبستگی بین درصد تنزگی دانه گرده در سطح کلاله و شمار لوله گرده در قسمت‌های مختلف خامه و تخمدان در جدول ۵ نشان داد که همبستگی مثبت و بالایی بین آن‌ها وجود داشت و بیشترین همبستگی بین شمار گرده در سطح کلاله و درصد تنزگی گرده در سطح کلاله (۰/۶۹) وجود داشت و کمترین همبستگی (۰/۳۱) بین درصد تنزگی گرده در سطح کلاله و شمار لوله گرده در وسط خامه وجود داشت. شمار لوله گرده در وسط تخمدان بیشترین اثر را در سازگاری گرده با مادگی داشت. این نشانگر این مطلب است که وقتی شمار لوله گرده بیشتری به وسط خامه می‌رسند، به طور حتم شمار بیشتری از آن‌ها تا تخمدان رشد کرده و در نهایت باعث باروری خواهند گردید.

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین تعداد گرده در سطح کلاله و درصد جوانه‌زنی با تعداد لوله گرده در خامه و تخمدان تلاقی‌های گروه دوم.

Table 5. Correlation among pollen number and germination percentages on the pistils and tube numbers in different parts of styles and ovary in crosses of group two.

	شمار گرده Pollen number	درصد تنزگی Germination percentage	ابتدای خامه Style begin	وسط خامه Style middle	انتهای خامه Style end
درصد تنزگی Germination percentage	.34**				
ابتدای خامه Style begin	.69**	.53**			
وسط خامه Style middle	.66**	.32**	.68**		
انتهای خامه Style end	.60**	.43**	.61**	.79**	
تخمدان Ovary	.58**	.31**	.64**	.71**	.70**

***: معنی‌دار در سطح یک درصد.

**; Significant in 1%

بحث

نتیجه‌های مقایسه میانگین شمار لوله‌های گرده نفوذ کرده به قسمت‌های مختلف خامه در تلاقی‌های خودی و غیرخودی نشان داد که به‌طور مرتب از کلاله تا تخمدان شمار لوله‌های گرده کاهش یافت که در حالت خودگرده‌افشانی شدت کاهش بیشتر بود. همچنین، در تلاقی‌های خودی با وجود تنزگی مناسب دانه گرده در سطح کلاله، رشد لوله‌های گرده به تدریج در یک سوم خامه متوقف شد. در تلاقی‌های دگرگرده‌افشانی، نسبت به تلاقی‌های خودی شمار لوله گرده در همه قسمت‌های خامه بیشتر بود. این نتیجه‌ها نشانگر احتمال وجود ناسازگاری نسبی در برخی از نژادگان‌هاست که با توجه به دگرچهارگان بودن آل‌های ناسازگاری در آلبالو که از والد گیلاس به آن منتقل شده است، دور از انتظار نیست.

مشابه نتیجه‌های به‌دست آمده در این پژوهش، Radunić (۱۵) با بررسی درصد تشکیل میوه در رقم‌های خودبارور و خودناسازگار آلبالو و تلاقی بین آن‌ها، گزارش نمودند که رقم‌های خودناسازگار آلبالو آن‌هایی هستند که در صورت گرده‌افشانی با گرده خودی بین ۱/۵ تا ۱۵٪ و یا کمتر تشکیل میوه می‌دهند. چنانچه درصد تشکیل میوه بالاتر از ۱۵ تا ۳۰٪ باشد نیمه خودناسازگار و بالاتر از آن خودبارور حساب می‌شوند. در یک پژوهش، Lansari و Iezzoni (۹) برای نخستین بار با بررسی روند رشد لوله گرده در خامه با میکروسکوپ فلورسنت در تلاقی‌های دای آلل بین رقم‌های تچموکورکا، کریسانا، متور^۳ و مونت مورنسی^۴ آلبالو و دو رقم ناسازگار گیلاس گزارش نمودند که برخی نتایج حاصل از تلاقی‌های رقم‌های خودبارور، خودناسازگاری نشان می‌دهند و این نشانگر این است که والدین این نتایج حاصل شمار زیادی آلل ناسازگاری فعال هستند که پیش‌تر مورد توجه قرار نگرفته‌اند. نتایج پژوهش حاضر با این یافته‌ها در یک راستا می‌باشد. همچنین، آن‌ها در این بررسی ثابت نمودند که رقم‌های تچموکارکا و کریسانا خودناسازگار هستند، اما رقم‌های متور و مونت مورنسی حالت نیمه خودناسازگاری دارند. پدیده متفاوتی که آن‌ها گزارش کردند این بود که در بررسی آن‌ها توقف رشد لوله‌گرده در رقم‌های خودناسازگار گیلاس در خامه صورت گرفت، اما در رقم‌های خودناسازگار آلبالو لوله‌های گرده در ابتدا سرعت رشد بالا و مشابه رقم‌های خودبارور داشتند و ۷۲ ساعت بعد از گرده‌افشانی، لوله‌ها در خامه چند شاخه شده و رشد آن‌ها برعکس و به سمت کلاله برمی‌گردند. البته سرعت رشد لوله‌گرده در رقم Montmorency بالاتر از Meteore بود. سرعت رشد لوله‌های گرده گیلاس در خامه آلبالو بیشتر از سرعت رشد لوله‌های گرده خود آلبالو بود.

Montmorency -۴ Meteore -۳ Crisana -۲ Tschrnokoka -۱

در پژوهشی Tobutt و همکاران (۱۹)، در ایستگاه ایست مالینگ انگلستان، سازگاری ۳۶ جمعیت از رقم کریسانا (Kros) آلبالو را با استفاده از استخراج و الکتروفورز پروتئین‌های خامه و PCR بررسی کرده و گزارش نمودند که در زیموگرام حاصل از الکتروفورز پروتئین‌های خامه در بیشتر نتایج سه نوار و در برخی دو و در برخی چهار نوار وجود داشت که هر کدام از آنها نشانگر یک آلل ناسازگاری می‌باشند که با PCR ثابت گردید.

در پژوهشی دیگر Lisek و همکاران (۱۰) آلل‌های ناسازگاری ۲۱ رقم از نقاط مختلف اروپا را با تکثیر اینترون‌های اول و دوم ژن SRNase شناسایی کرده و ۱۵ آلل ناسازگاری شامل S1، S4، S6، S6m، S9، S12، S13، S13'، S26، S35، S36a، S36b و S36bc بودند که بیشترین فراوانی مربوط به آلل S13 بود. همچنین، از بین ۲۱ رقم مورد بررسی، ۱۷ رقم خودبارور بودند. نتیجه‌های حاصل از این بررسی باعث شد که در احداث باغ‌های آلبالوی جدید در اروپا انتخاب رقم‌های گرده‌زا با دقت بیشتری صورت گیرد.

آلل‌های ناسازگاری به تعداد چهار عدد شامل Sa، Sb، Sc و Sd در گونه *P. froticosa* شناسایی شده‌اند که به تازگی این آلل‌ها با نام‌های S26، S33، S35، S36a، S36b، S36b2 و S36b3 مشهور هستند. در پژوهشی، Yamane (۲۴) گزارش کرد که در همه رقم‌های آلبالو (خودبارور و خود نابارور) دستکم یک آلل فعال ناسازگاری گیلان وجود دارد.

تاکنون ۱۲ آلل ناسازگاری فعال و ۹ آلل ناسازگاری غیرفعال در آلبالو شناسایی شده‌اند که آلل‌های ناسازگار فعال شامل S1، S4، S6، S9، S12، S13، S14، S15، S26، S33، S34 و S35 هستند و آلل‌های ناسازگار غیرفعال شامل S1'، S6m، S6mc، S13، S13m، S36a، S36b، S36bc و S36b3 هستند. باید بیان شود که آلل‌های ناسازگاری غیرفعال با پسوند پریم یا ام انگلیسی مشخص می‌شوند. و بیشتر آن‌ها از گونه *P. froticosa* به ارث رسیده‌اند (۱۹). برخی از آلل‌های بالا در گیلان نیز شناسایی شده‌اند و این نشانگر این است که این آلل‌ها از گیلان به آلبالو منتقل شده‌اند، زیرا آلبالو دوره‌ای بین گیلان و گونه *P. froticosa* می‌باشد. همچنین، آلل‌های ناسازگار غیرفعال در آلبالو در گیلان نیز فعال هستند که نشانگر این حقیقت است که چهارگان شدن آلبالو باعث غیرفعال شدن آلل‌های ناسازگاری در آلبالو شده است. به‌طور کلی پلی‌پلوئیدی باعث از بین رفتن خودناسازگاری گامتوفیتیک می‌شود. همچنین، افزایش یا کاهش ناگهانی دما باعث غیرفعال شدن آلل‌های ناسازگاری می‌شود. شاید در برخی سال‌ها که پس از سرمای دیررس بهاره در برخی درختان میوه خودناسازگار مثل بادام، گیلان و آلبالو میوه محدودی تشکیل می‌شود، علت آن همین پدیده باشد.

نتیجه‌گیری

در همه تلاقی‌های دگرگرده‌افشانی و خودگرده‌افشانی به‌طور مرتب از کلاله تا تخمدان شمار لوله‌های گرده کاهش یافت که در حالت خودگرده‌افشانی شدت کاهش بیشتر بود. همچنین، در تلاقی‌های خودگرده‌افشانی خلاف تنژگی مناسب دانه گرده در سطح کلاله، رشد لوله‌های گرده به تدریج در یک‌سوم خامه متوقف شد. به‌طور کلی، در تلاقی‌های دگرگرده‌افشانی، نسبت به تلاقی‌های خودگرده‌افشانی، شمار لوله گرده در همه قسمت‌های خامه بیشتر بود. این نتیجه‌ها نشانگر احتمال وجود ناسازگاری نسبی در برخی از نژادگان‌هاست.

سپاسگزاری

هزینه انجام این آزمایش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه شاهد تهران تأمین شده است. نگارندگان مراتب سپاسگزاری خود را از مسئولین ذیربط اعلام می‌دارند.

References

1. Atlagić, J., S. Terzić and J.A. Marjanović. 2012. Staining and fluorescent microscopy methods for pollen viability determination in sunflower and other plant species. *Indust. Crop Prod.* 35: 88-91.
2. Eftekhari, M. and Y. Sharafi. 2020. Microscopic study of fertilization and fruit set in apricot cultivars sprayed by zinc. *Hort. Plant. Nutr.* 2:1-14.
3. Eftekhari, M. and Y. Sharafi. 2020. Microscopic study of the effect of Boron foliar application on pollen tube penetration and fruit set in apricot cultivars. *Hort. Plant. Nutr.* 3:13-22.
4. FAO. 2018. FAO statistical database. <http://apps.fao.org>.
5. Faust, M. 1989. *Physiology of temperate-Zone Fruit Trees*. John Wiley and Sons, New York, U.S.A. 388p.

منابع

6. Halasz, J., A. Hegdus and Pedryec. 2006. Review of the molecular background of self-incompatibility in Rosaceae fruit trees. *J. Hort. Sci.* 12: 7-19.
7. Hauck, N., H., Yamane., R., Tao and A.F. Iezzoni. 2002. Self-compatibility and incompatibility in tetraploid sour cherry (*Prunus cerasus* L.). *Sex Plant Reprod.* 16:14-19.
8. Kubitscheck, U. 2017. *Fluorescence microscopy: from principles to biological applications*: John Wiley & Sons. 504 pages.
9. Lansari, A. and A. Iezzoni. 1990. A preliminary analysis of self-incompatibility in Sour Cherry. *HortScience*, 25:1636-1638.
10. Lisek A., K., Danuta., G. Agnieszka and R. Elżbieta. 2017. Identification of S-haplotypes of European cultivars of sour cherry. *J. Hort. Sci. Biotech.* 92:484-488.
11. Mable, B.K. 2004. Polyploidy and self-compatibility: Is there an association? *New Phytolog.* 162:803–811.
12. Makovics-Zsohár, N. and J. Halász. 2016. Self-incompatibility system in polyploid fruit tree species- A review. *International J. Plant Reprod. Biol.* 8:24-33.
13. Mularczyk-Oliwa, M.A., M. Bombalska., M. Kaliszewski., K. Włodarski Kopczyński, M. Kwaśny., M. Szpakowska. and E.A. Trafny. 2012. Comparison of fluorescence spectroscopy and FTIR in differentiation of plant pollens. *Spectro. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectros.* 97:246-254.
14. Nathanael, R., N. Hauck., H. Yamane., R. Tao and B. Amy, F. Iezzoni. 2006. Accumulation of nonfunctional S-haplotypes results in the breakdown of gametophytic self-incompatibility in tetraploid *Prunus*. *Genet. Soc. Amer.* 172: 1191–1198.
15. Radunić, M., A. Jazbec., S. Ercisli., Z. Čmelik and S.G. Ban. 2017. Pollen-pistil interaction influence on the fruit set of sweet cherry. *Scientia. Hort.* 224:358-366.
16. Sharafi, Y. and Raina, M. 2020. Effect of boron on pollen attributes in different cultivars of *Malus domestica* L. *Natl. Acad. Sci. Lett.* 5: 399-403.
17. Sharafi, Y. 2019. Effects of zinc on pollen gamete penetration to pistils in some apple crosses assessed by fluorescence microscopy. *Caryologia*, 72: 63-73.
18. Sharafi, Y., Talebi, S.F and Talei, D. 2017. Effects of heavy metals on male gametes of sweet cherry. *Caryologia*, 70: 166-173
19. Tobutt, K.R., R. Boskovic., R. Cerovic., T. Sonneveld. and D. Rusic. 2004. Identification of incompatibility alleles in the tetraploid species sour cherry. *Theor. Appl. Genet.* 108:775–785.
20. Tsukamoto, T., N.R. Hauck., R. Tao., N. Jiang and A.F. Iezzoni 2008. Genetic and molecular characterization of three nonfunctional haplotypes in sour cherry (*Prunus cerasus*). *J. Exp. Bot.* 59: 3169-3185.
21. Tsukamoto, T., N.R. Hauck., R. Tao., N. Jiang and A.F. Iezzoni. 2006. Molecular characterization of three nonfunctional haplotypes in sour cherry (*Prunus cerasus*). *Plant Mol. Biol.* 62: 371–383.
22. Tsukamoto, T., N.R. Hauck., R. Tao., N. Jiang and A.F. Iezzoni. 2010. Molecular and Genetic Analyses of Four Nonfunctional S Haplotype Variants Derived from a Common Ancestral S Haplotype Identified in Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.). *Genet. Soc. Amer.* 184: 411–427.
23. Urbanczyk, J., M.A.F. Casado., T.E. Diaz., P. Heras., M. Infante and A.G. Borrego. 2015. Reprint of “Spectral fluorescence variation of pollen and spores from recent peat-forming plants”. *Inter. J. Coal Geol.* 139: 206-216.
24. Yamane, H., I. Kazuo., R. Nathanael. Hauck, F. Amy, Iezzoni and T. Ryutaro. 2003. Self-incompatibility (S) locus region of the mutated S6-haplotype of sour cherry (*Prunus cerasus*.) contains a functional pollen S allele and a non-functional pistil S allele. *J. Exp. Bot.* 392: 2431-2437.
25. Yeloff, D, and C., Hunt. 2005. Fluorescence microscopy of pollen and spores: a tool for investigating environmental change. *Rev. Pala. Palyn.* 133: 203-219.

Investigation of the Compatibility among some Sour Cherry Cultivars and Genotypes in Iran

J. Sabbaghpoor Heris, Y. Sharafi* and N. Buzari¹

Sour cherry is one of the most important stone fruits of Rosaceae family. Iran ranked 3th to 6th among the main sour cherry producer countries in the world. Most of the sour cherry cultivars are self-compatible but self-incompatible cases have been reported currently. Allotetraploidy of sour cherry complicates the self-incompatibly segregation in the progeny and because of this trait less studies have been accomplished specially in Iran. In the present study, pollen-pistil compatibility relationships among some sour cherry cultivars and selected genotypes were investigated by controlled pollination and pollen tube penetration by fluorescence microscopy. Three self-incompatible cultivars (S.I. 209, S.I.301 and E.J.175 as the pollinated parents) and genotypes (K110, T145, T140, K202, M171 and M150 as the pollinizers) were selected. After controlled pollination fruit set was studied and the pollen tubes growth along the style was studied using fluorescent microscope. Results showed that cross-incompatibility was not observed among the studied cultivars and genotypes. Therefore, they could be used in the breeding programs and orchards establishment based on their synchronized blooming time.

Keywords: Sour cherry, Self-incompatibility, Pollination, Florescence microscopy.

1. Former M.Sc. Student, Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahed University and Associated Professor, Institute of Agriculture and Biotechnology Researches, Karaj, Iran, respectively.

* Corresponding author, Email: (y.sharafi@shahed.ac.ir).