

گرده‌افشانی، رشد لوله‌گرده و تعیین پلی‌نایزر (گرده‌دهنده) مناسب
برای گیلاس (*Prunus avium* L.) رقم قرمز رضائیه*
Pollination, Pollen Tube Growth and Determination of Suitable Pollinizer
for Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Cultivar Ghermez Rezaeieh

محمد محمودی، کاظم ارزانی و ناصر بوذری

دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس و مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۳/۱۳

چکیده

محمودی، م.، ارزانی، ک.، و بوذری، ن. ۱۳۸۶. گرده‌افشانی، رشد لوله‌گرده و تعیین پلی‌نایزر (گرده‌دهنده) مناسب برای گیلاس (*Prunus avium* L.) رقم قرمز رضائیه. نهال و بذر ۲۳: ۵۸۵-۵۷۱.

گیلاس یکی از مهم‌ترین میوه‌های مناطق معتدله در دنیا است. اکثر ارقام گیلاس به دلیل خودناسازگاری، همواره مشکلاتی را از نظر تلقیح و میوه‌دهی به همراه داشته‌اند، لذا برای تولید میوه تجارتي نیاز به گرده‌دهنده مناسب و سازگار دارند. در این آزمایش گیلاس رقم قرمز رضائیه به عنوان گرده‌گیرنده با دانه‌گرده ارقام زرد دانشکده، پروتیوا، صورتی لواسان، حاج یوسفی، مشکین‌شهر و همچنین قرمز رضائیه گرده‌افشانی شد. تیمارهای یاد شده بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به کار گرفته شدند. عملیات آزمایشگاهی و مطالعات میکروسکوپی این پژوهش در آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه تربیت مدرس و عملیات باغی در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌آباد وابسته به مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد. تعیین سازگاری و ناسازگاری ارقام گرده‌دهنده به دو روش گرده‌افشانی کنترل شده و مطالعه میکروسکوپی رشد لوله‌گرده انجام شد. نتایج حاصل از گرده‌افشانی کنترل شده نشان داد که رقم مشکین‌شهر و پروتیوا سازگار و بقیه ارقام شامل زرد دانشکده، صورتی لواسان و حاج یوسفی با رقم قرمز رضائیه ناسازگار هستند. درصد تشکیل میوه در رقم قرمز رضائیه با استفاده از گرده ارقام زرد دانشکده، پروتیوا، صورتی لواسان، حاج یوسفی و مشکین‌شهر به ترتیب ۰/۵۴، ۴۰/۹۴، ۰/۲۴، ۰/۸۰ و ۶۱/۳۶ درصد بود. نتایج همچنین نشان داد که گیلاس رقم قرمز رضائیه یک رقم خودناسازگار است (درصد تشکیل میوه = صفر) و برای تشکیل میوه نیاز به گرده ارقام مناسب دارد. مطالعه با میکروسکوپ فلورسنس نشان داد که لوله‌گرده رقم مشکین‌شهر ۹۶ ساعت پس از گرده‌افشانی به تخمدان می‌رسد که این مطالعه و بررسی میکروسکوپی رشد لوله‌گرده در خامه گل‌های گرده‌افشانی شده، با نتایج روش گرده‌افشانی کنترل شده در باغ مطابقت نشان داد. در نهایت دو رقم پروتیوا و مشکین‌شهر به عنوان گرده‌دهنده مناسب برای گیلاس رقم قرمز رضائیه انتخاب شدند.

واژه‌های کلیدی: گیلاس، خودناسازگاری، گرده‌افشانی، دانه‌گرده، رشد لوله‌گرده، میکروسکوپ فلورسنس.

* بخشی از پایان‌نامه نگارنده اول که به گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ارائه شده است.

مقدمه

کرده‌اند و بعد از چند سال با مشکل میوه‌دهی روبرو شده‌اند که این باغ‌ها نیاز به اصلاح دارند (اصغری، ۱۳۸۲؛ اصغری و ارزانی، ۱۳۸۵). برای حل این مشکل، تعیین سازگاری و ناسازگاری بین ارقام ایرانی و نیز بین ارقام ایرانی و ارقام مطلوب خارجی باید یکی از اهداف مهم در بخش تحقیقات باغبانی کشور باشد (Arzani, 1998).

مشکل خودناسازگاری و دگرناسازگاری در باغ‌های گیلاس برای اولین بار در سال ۱۹۱۴ در ایالت اورگان گزارش شد (Choi et al., 2002). از آن به بعد بررسی‌ها در این زمینه شروع شد و مشخص شد که خودناسازگاری در گیلاس از نوع گامتوفیتیک است که ژنوتیپ هاپلو تایپ دانه‌گرده تعیین‌کننده باروری تخمک است و توسط چندین آلل S کنترل می‌شود (Zhu et al., 2004). علاوه بر این مشخص شد که اکثر ارقام تجاری مانند بینگ (Bing)، ناپلئون (Napoleon) و لامبرت (Lambert) با یکدیگر ناسازگارند و در یک گروه ناسازگاری قرار می‌گیرند (سیفی و ارزانی، ۱۳۷۷). کرن و لارنس (Crane and Lawrance, 1929) وجود ۹ گروه ناسازگاری را برای گیلاس گزارش کردند. در ادامه این تحقیقات، این تعداد به ۱۱ گروه در سال ۱۹۳۷ (Crane and Brown, 1937) و به ۱۲ گروه در سال ۱۹۵۵ افزایش یافت. براون

گیلاس (*Prunus avium* L.) از خانواده گل سرخ (Rosaceae) و زیرتیره پرونوئیده (Prunoideae) است و از منطقه‌ای بین دریای سیاه و دریای خزر منشاء گرفته است. اولین گزارش‌ها در مورد کشت گیلاس به زمان‌های باستان بر می‌گردد. هر چند که گزارش‌هایی وجود دارد که میوه گیلاس‌های وحشی مدت‌ها قبل از این برداشت می‌شده است (Wunsch and Hormaza, 2004b). در سال ۲۰۰۱ تولید کل گیلاس و آلبالو به دو میلیون تن رسید که در این بین کشورهای ایران، آمریکا، ترکیه، آلمان، ایتالیا و اسپانیا ۶۰٪ تولید را تأمین کردند (Faostat, 2002*).

گیلاس رقم قرمز رضائیه یکی از ارقام مهم کشور است که میوه آن به طور متوسط ۸ گرم با رنگ زرد و رنگ زمینه قرمز در اوایل تیر ماه می‌رسد. لازم به ذکر است که از نظر گلدھی، این رقم جز ارقام نسبتاً دیرگل (۲۳ فروردین تا ۸ اردیبهشت ماه) به حساب می‌آید. متوسط عملکرد آن ۲۳ کیلوگرم در هر درخت است (Arzani, 1998).

در ایران اغلب روش‌های کشت گیلاس سنتی است و باغ‌های کوچک توسط مالکین مختلف مدیریت می‌شود. باغداران باغ‌های بدون اطلاع از بحث خودناسازگاری (Self-incompatibility) و دگرناسازگاری (Crass-incompatibility) بین ارقام، احداث

* Agriculture date. <http://apps.fao.org/page/collection? Subset = agriculture>

با رقم سیاه مشهد و دیررس ایتالیا، لامبرت، حاج یوسفی و سیلژبلادی باریون با قرمز رضائیه، زرد دانشکده و هیبرید شماره ۱ کرج به عنوان والد مادری توسط گوهرخای (۱۳۷۲) مطالعه و مشخص شد که ارقام لامبرت و حاج یوسفی با رقم‌های قرمز رضائیه و زرد دانشکده به عنوان پایه مادری، دگرناسازگار هستند. سازگاری ارقام زرد دانشکده، سفید رضائیه، بینگ، لامبرت و پروتوا با گیلاس سیاه مشهد بررسی و مشخص شد که تنها رقم لامبرت با سیاه مشهد دگرناسازگار است (سیفی و ارزانی، ۱۳۷۷). فتحی (۱۳۷۶)، سازگاری ارقام بینگ، ناپلئون و دیررس ایتالیا به عنوان والد مادری با رقم سیاه مشهد به عنوان والد پدری را بررسی کرد و نتیجه گرفت که رقم سیاه مشهد با هر سه رقم دگرناسازگار است. اخیراً ارقام زرد دانشکده، پروتوا، صورتی لواسان، لامبرت، حاج یوسفی، سیلژبلادی باریون، سفید رضائیه، گیلاس شماره ۲۸، قزوین، قرمز باغ نو، رآفت، ابرده، سیاه دانشکده، قرمز رضائیه، دورگ شماره ۱ کرج، مجتهدی و درون کزنا با رقم سیاه مشهد مورد بررسی قرار گرفتند و مشخص شد که همه ارقام با سیاه مشهد دگرناسازگار هستند (ارزانی، گزارش منتشر نشده). اصغری (۱۳۸۲) سازگاری ارقام ابرده، بینگ، پروتوا، زرد دانشکده، مشکین شهر و ناپلئون را با رقم حاج یوسفی مورد بررسی قرار داد و عنوان کرد که تنها ارقام ناپلئون و مشکین شهر با رقم حاج یوسفی دگرناسازگار هستند. هدف از پژوهش حاضر

(Brown, 1955) آلل‌های S را در ۹ گروه از این ۱۲ گروه شناسائی کرد که ۶ آلل مسئول خودناسازگاری و دگرناسازگاری بودند و S₁ تا S₆ نامگذاری شدند. تهرانی و لای (Tehrani and Lay, 1991) گروه ۱۴ گروه ناسازگاری به اضافه یک گروه عمومی را شناسائی کردند. بوسکوویچ و توبوت (Boskovic and Tobutt, 2001) با کشف ۳ آلل جدید S₁₂ تا S₁₄، به وجود ۶ گروه ناسازگاری جدید XIV تا XIX پی بردند. چویی و همکاران (Choi et al., 2002) تعداد گروه‌های ناسازگاری گرده گیلاس را تا ۲۸ گروه پیش‌بینی کرد. در سال ۲۰۰۳ دو گروه ناسازگاری XXIII و XXIV نیز شناسایی شد (Sonneveld et al., 2003). اخیراً به کمک PCR آلل‌های S، ترکیب آللی گروه‌های ناشناخته مشخص و علاوه بر آن آلل‌های S جدید و گروه‌های ناسازگاری جدیدی گزارش شده است (Wunsch and Hormaza, 2004a). تاکنون بیشتر مطالعات سازگاری و ناسازگاری در ایران به روش گرده‌افشانی کنترل شده و مشاهدات در باغ صورت گرفته است. ارزانی (۱۳۶۷) سازگاری ارقام گیلاس شبستر، صورتی لواسان، ناپلئون و سیلژ بلامارکا در تلقیح گیلاس سیاه مشهد مورد بررسی قرار داد و اظهار داشت که رقم سیاه مشهد کاملاً خودناسازگار است ولی همه ارقام مذکور با این رقم دگرناسازگار هستند. سازگاری ارقام حاج یوسفی، دیررس ایتالیا و سیلژبلادی باریون

با استفاده از پارچه ململ که قبلاً در اندازه‌های 70×35 سانتی متر تهیه شده بودند، اقدام شد (Arzani and Khalighi, 1998). از ارقام گرده‌دهنده شاخه‌هایی به طول $1-1/5$ متر که دارای جوانه گل کافی بودند قطع و به آزمایشگاه منتقل شدند. این شاخه‌ها در سطل‌های ۲۰ لیتری در داخل آب در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از طی چند روز گل‌ها باز شدند. بلافاصله پس از باز شدن گل، گرده آن‌ها به دقت جمع‌آوری شد و پس از خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه، در شیشه‌های کوچک ده میلی‌لیتری در دمای یخچال تا زمان گرده‌افشانی نگهداری شدند. به منظور استفاده از گرده تازه ارقام گرده‌دهنده، از هر کدام دو شاخه ایزوله شد. برای اطمینان از زنده بودن گرده‌ها یک روز قبل از گرده‌افشانی عمل کشت دانه گرده در محیطی که شامل ۱۵ درصد ساکارز، ۲۰ پی‌پی‌ام اسیدبوریک و ۱ درصد آگار بود، در تشتک پتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از ۲۴ ساعت عمل شمارش گرده‌های جوانه زده در زیر بینوکولر انجام شد. تقریباً دو روز پس از باز شدن گل‌ها بر روی هر شاخه ۱۰۰ تا ۱۵۰ گل باز شده انتخاب و بقیه حذف شدند. عمل گرده‌افشانی با استفاده از قلم‌مو انجام شد. به منظور جلوگیری از اختلاط گرده‌های ارقام مختلف برای هر رقم، از قلم‌موی مخصوص همان رقم استفاده شد و در جریان کار دست‌ها و ابزار مورد استفاده مرتباً با الکل ۷۵ درصد

تعیین پلی‌نایزر (گرده‌دهنده) مناسب برای رقم قرمز رضائیه از میان پنج رقم زرد دانشکده، پروتیوا، صورتی لواسان، حاج‌یوسفی و مشکین شهر بود. لازم است این گونه بررسی‌ها در مورد تمامی ارقام ایرانی (۵۰ رقم) انجام شود تا در آینده بتوان جدول کاملی از چگونگی سازگاری ارقام مختلف در کشور ارائه شود تا مورد استفاده باغداران و پژوهشگران قرار گیرد و مشکل تلقیح گیلان در کشور کاملاً حل شود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمال‌آباد وابسته به مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد. کارهای آزمایشگاهی آن در آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس صورت گرفت. برخی از ارقام گیلان بر اساس همزمانی گل و ارزش اقتصادی انتخاب شدند که شامل رقم قرمز رضائیه به عنوان والد مادری (Seed parent) و ارقام صورتی لواسان، حاج‌یوسفی، پروتیوا، زرد دانشکده، مشکین شهر و قرمز رضائیه به عنوان والد‌های پدری (Pollen parent) بودند. در این بررسی از طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار استفاده شد و از هر درخت به عنوان تکرار استفاده شد. در هر درخت برای هر تیمار دو شاخه در دو جهت شمال و جنوب درخت انتخاب و قبل از باز شدن جوانه‌ها نسبت به ایزوله کردن شاخه‌ها

مدت ۲۴ ساعت در سود (NaOH) هشت نرمال به منظور نرم شدن بافت و نفوذ بهتر رنگ نگه‌داری شدند. مجدداً نمونه‌ها سه بار با آب مقطر شسته و در محلول فسفات پتاسیم (K₃PO₄) ۰/۱ نرمال حاوی ۱٪ رنگ آنیلین بلو به مدت ۳ تا ۴ ساعت قرار گرفتند (Company and Alonso, 2004 SociasI). پس از نمونه‌ها از محلول خارج و بر روی لام گذاشته و با قرار دادن لامل روی نمونه و فشار اندک پرس و رشد لوله گرده ارقام مختلف با میکروسکوپ فلورسنس (شرکت Olympus ژاپن) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

نتایج بررسی قدرت جوانه‌زنی دانه‌های گرده نشان داد که همه گرده‌ها از قوه نامیه مناسبی برخوردار بودند (شکل ۱) و می‌توانند برای گرده‌افشانی استفاده شوند (میانگین جوانه‌زنی دانه‌های گرده ارقام مختلف در سال اول و دوم آزمایش به ترتیب ۶۹ و ۶۵ درصد بود). نتایج مربوط به درصد تشکیل میوه نشان داد که در شمارش اول اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود ندارد. همچنین بین درصد تشکیل میوه در شمال و جنوب درخت و اثر متقابل جهت و نوع گرده‌دهنده معنی‌دار نبود. علاوه بر آن مقایسه میانگین به کمک آزمون دانکن نشان داد که رقم مشکین شهر بیشترین درصد تشکیل میوه را باعث شده بود (۷۰/۲۵ درصد).

ضد عفونی شد. بلافاصله عمل گرده‌افشانی با گرده تازه نیز انجام شد. بعد از عمل گرده‌افشانی شاخه‌ها دوباره ایزوله شدند و تا زمان شمارش میوه مواظبت گردیدند. عمل شمارش میوه در فواصل زمانی ۱۵، ۲۵ و ۳۵ روز بعد از گرده‌افشانی و در مرحله برداشت میوه (۶۰ روز بعد از گرده‌افشانی) انجام شد تا درصد تشکیل میوه با هر یک از ارقام گرده‌دهنده به دست آید. درصد تشکیل میوه بر اساس تعداد گل گرده‌افشانی شده و تعداد میوه تشکیل شده محاسبه شد (اصغری و ارزانی، ۱۳۸۵). تجزیه واریانس بر روی نتایج به دست آمده انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن به وسیله نرم‌افزار SPSS مقایسه شدند.

مطالعه میکروسکوپی رشد لوله گرده ارقام گرده‌دهنده مورد مطالعه در خامه گیلاس رقم قرمز رضائیه، در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی انجام شد. از هر تیمار پنج عدد مادگی گل‌های گرده‌افشانی شده در محلول FAA (۵٪ فرمالین + ۵٪ اسید استیک + ۹۰٪ اتانول ۷۵ درصد) تثبیت و جهت مطالعه رشد لوله گرده به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها از محلول FAA خارج شده و سه بار با آب مقطر شسته و در الکل اتیلیک ۷۵٪ تا زمان شروع مراحل آماده‌سازی نمونه نگه‌داری شدند. به منظور آماده کردن نمونه‌ها برای مطالعه میکروسکوپی، ابتدا نمونه‌ها از الکل ۷۵٪ خارج و پس از سه بار شستشو با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شدند.

شمارش چهارم با گرده رقم‌های مشکین شهر، پروتیوا، حاج یوسفی، زرد دانشکده، صورتی لواسان و قرمز رضائیه به ترتیب ۶۱/۳۶، ۴۰/۹۴، ۰/۸۰، ۰/۵۴، ۰/۲۴ و صفر درصد بود. بنابراین دو رقم پروتیوا و مشکین شهر با رقم قرمز رضائیه سازگار بودند. شکل‌های ۲، ۳ و ۴ میانگین درصد تشکیل میوه را به ترتیب در شمارش‌های اول، دوم و سوم با تیمارهای گرده‌دهنده مختلف نشان می‌دهند.

در شمارش دوم اختلاف بین تیمارها در سطح ۱٪ معنی‌دار بود، در حالی که اختلاف بین جهت شمال و جنوب و اثر متقابل جهت و تیمار معنی‌دار نبود. درصد تشکیل میوه در شمارش سوم و چهارم برابر بود و به عنوان درصد تشکیل میوه نهائی در نظر گرفته شد. اختلاف بین تیمارها هم در سطح ۱٪ معنی‌دار بود ولی اختلاف بین جهت شمال و جنوب و اثر متقابل جهت و تیمار (رقم) معنی‌دار نبود. میزان تشکیل میوه در



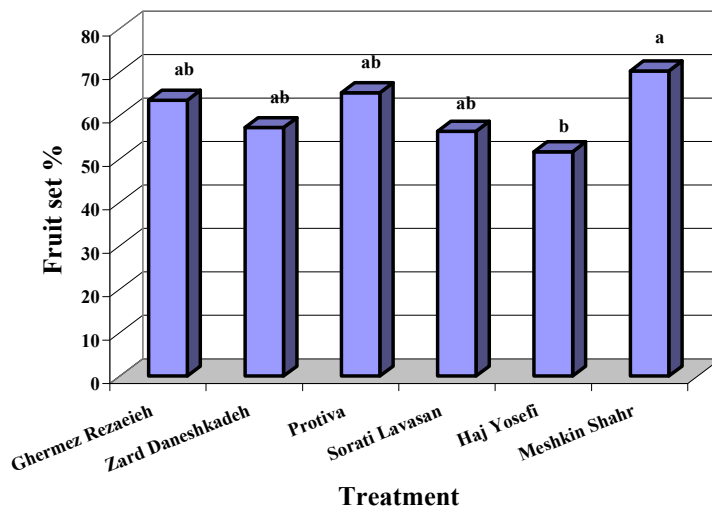
شکل ۱- نمائی از رشد لوله گرده رقم پروتیوا در تشک پتری (۲۴ ساعت پس از کشت)

Fig. 1. *In vitro* pollen grain germination of *Prunus avium* cv. Protiva (24 h after treatment)

سانتی‌گراد انجام شد و دما بلافاصله پس از گرده‌افشانی در شب به زیر ۵ درجه سانتی‌گراد نزول پیدا کرد. نمونه‌های گرفته شده از این شاخه‌ها نشان داد که دمای زیر ۵ درجه سانتی‌گراد حتی جوانه‌زنی دانه گرده را هم

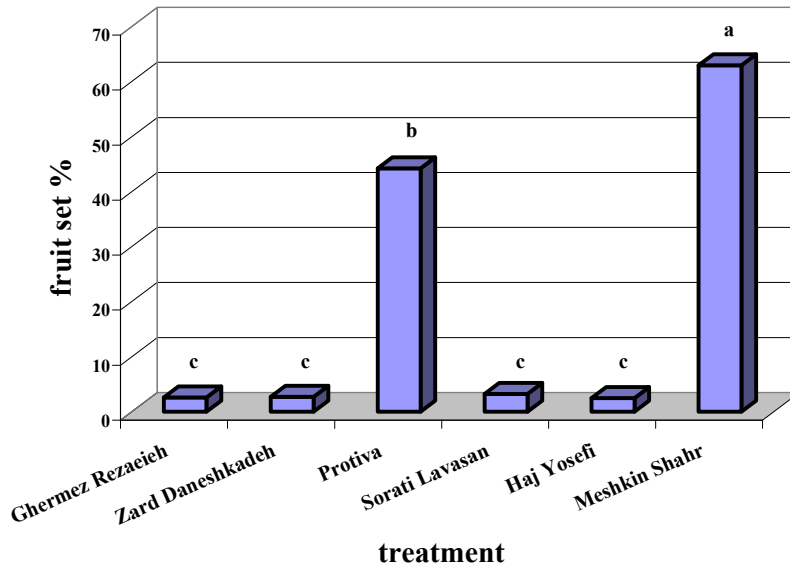
نتایج مشاهده رشد لوله گرده نمونه‌های سال اول نشان داد که دمای کم (زیر ۱۰ درجه سانتی‌گراد) جوانه‌زنی و رشد لوله گرده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گرده‌افشانی شاخه‌های مورد آزمایش در سال اول در دمای ۱۵ درجه

گرده افشانی، رشد لوله گرده و تعیین



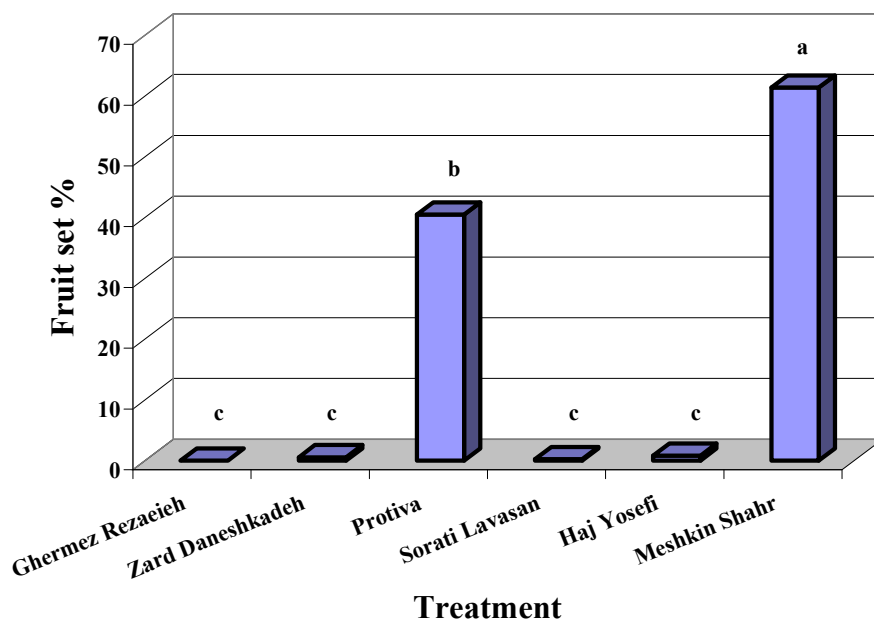
شکل ۲- میانگین درصد تشکیل میوه در رقم قرمز رضائیه در شمارش اول (۱۵ روز بعد از گرده افشانی) با گرده دهنده های مختلف

Fig. 2. Mean of fruit set percentage in the first record (15 days after pollination), with various pollen parents
Bars with similar letters are not significantly different at 1% level, according Duncan's multiple range test.



شکل ۳- میانگین درصد تشکیل میوه در رقم قرمز رضائیه در شمارش دوم (۲۵ روز بعد از گرده افشانی) با گرده دهنده های مختلف

Fig.3. Mean of fruit set percentage in the second record (25 days after pollination) with various pollen parents
Bars with similar letters are not significantly different at 1% level, according Duncan's multiple range test.



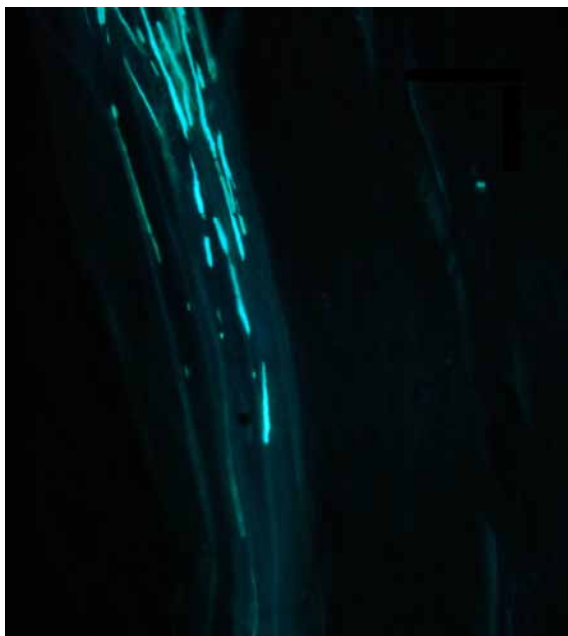
شکل ۴- میانگین درصد تشکیل میوه در رقم قرمز رضائیه در شمارش سوم و چهارم (۳۵ و ۶۰ روز بعد از گرده افشانی) با گرده دهنده های مختلف

Fig. 4. Mean of fruit set percentage in the 3rd. and 4th record (35 and 60 days after pollination) with various pollen parents

Bars with similar letters are not significantly different at 1% level, according Duncan's multiple range test.

نمونه های سال دوم آزمایش نشان داد که دانه های گرده رقم قرمز رضائیه بر روی کلالة مادگی گل های خودی به خوبی جوانه زدند ولی در ناحیه یک سوم ابتدائی خامه متوقف شدند. همچنین لوله گرده ارقام دگرناسازگار مثل زرد دانشکده، صورتی لواسان و حاج یوسفی نیز در یک سوم ابتدائی خامه متوقف شدند. لازم به توضیح است که در برخی موارد مشاهده شد که لوله گرده ارقام دگرناسازگار به

مختل می کند (شکل ۵). در مواردی مشاهده شد که رشد لوله گرده ارقام سازگار (پروتیوا) متوقف شده است (شکل ۶). در سال دوم گرده افشانی در دمای مناسب (۲۵ درجه سانتی گراد) انجام شد و متعاقب آن در روزهای پس از گرده افشانی تا ده روز دما حدود ۱۷ تا ۲۵ درجه سانتی گراد بود، بنابراین در سال دوم آزمایش جوانه زنی و رشد لوله گرده بیشتر تحت تأثیر ژنوتیپ قرار گرفت. نتایج حاصل از



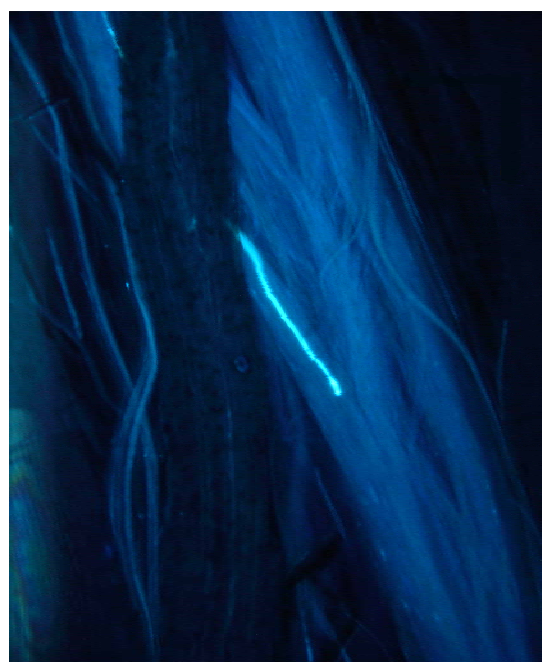
شکل ۶- توقف رشد لوله گرده پروتیوا (♂) در خامه رقم مادری قرمز رضائیه (♀)
 Fig. 6. Inhibition of pollen tube growth of Protiva (♂) cultivar in the style of Ghermez Rezaeieh (♀) cultivar



شکل ۵- توقف جوانه زنی گرده رقم مشکین شهر (♂) بر روی کللاه رقم مادری قرمز رضائیه (♀)
 Fig. 5. Suppression of pollen germination of Meshkin share (♂) on the stigma of Ghermez Rezaeieh (♀) cultivar



شکل ۸- لوله گرده رقم مشکین شهر (♂) در ابتدای تخمدان رقم قرمز رضائیه (♀)
 Fig. 8. Pollen tube of Meshkinshahr (♂) cultivar in the end part of style of Ghermez Rezaeieh (♀) cultivar



شکل ۷- توقف رشد لوله گرده رقم حاج یوسفی (♂) در یک سوم میانی خامه رقم قرمز رضائیه (♀)
 Fig. 7. Inhibition of pollen tube growth of Haj-Yosef (♂) cultivar in the one third part of style of Ghermez Rezaeieh (♀) cultivar

صورتی لواسان، و حاجی یوسفی نیز با رقم رضائیه دگر ناسازگار و درصد تشکیل میوه به ترتیب ۰/۵۴، ۰/۲۴، و ۰/۸۰ درصد بود. دگر ناسازگاری حاجی یوسفی با رقم قرمز رضائیه قبلاً به اثبات رسیده بود (گوهرخای، ۱۳۷۲). ارقام پروتویا و مشکین شهر با رقم قرمز رضائیه سازگاری نشان دادند و درصد تشکیل میوه به ترتیب ۴۰/۴۹ و ۶۱/۳۶ درصد بود. مطالعه میکروسکوپی هم نشان داد که لوله گرده این دو رقم حتی در مدت ۹۶ ساعت به تخمک رسیده بود، در حالی که ارقام ناسازگار در ۱۲۰ ساعت هم به نیمه دوم مادگی نرسیده بود. با توجه به این نتایج در احداث باغ‌های تجاری گیلاس می‌توان از این دو رقم با توجه به همزمانی در گلدهی و سازگاری به عنوان گرده‌دهنده استفاده کرد. لازم به ذکر است که باید سازگاری رقم قرمز رضائیه با ارقام پروتویا و مشکین شهر در تلاقی برگشتی به عنوان والد مادری نیز مورد مطالعه قرار گیرد. زیرا در یک باغ تجاری گرده‌دهنده‌ها نیز باید محصول تولید کنند.

ارقام دگر سازگاری که در یک باغ کشت می‌شوند بایستی از همزمانی گلدهی برخوردار باشند تا طی دوره گرده‌افشانی مؤثر محدود، میوه تشکیل شود. در تحقیق حاضر، ارقام دگر سازگار با رقم رضائیه از همپوشانی گلدهی مناسبی برخوردار بودند و توانستند گرده مناسبی را جهت تلقیح گیلاس رقم قرمز رضائیه تأمین کنند. همپوشانی گلدهی در

یک سوم میانی خامه رسیدند (شکل ۷)، در حالی که لوله گرده ارقام دگر سازگار (مشکین شهر و پروتویا) در ۹۶ ساعت پس از گرده‌افشانی به تخمدان رسیده بودند (شکل ۸).

روش‌های متعددی جهت بررسی میزان سازگاری ارقام مختلف گیلاس و تعیین گرده‌دهنده (پلی‌نایزر) مناسب برای آن‌ها گسترش یافته است (Ortega and Dicenta, 2004). این روش‌ها شامل گرده‌افشانی کنترل شده، مشاهده رشد لوله گرده با میکروسکوپ فلورسنس، ریونوکلناز خامه و روش PCR آلل S است. هر کدام از روش‌های مذکور دارای مزایا و معایبی است. با توجه به این که در روش گرده‌افشانی کنترل شده، امکان تخمین عملکرد باغ با چندین رقم وجود دارد، جهت تعیین گرده‌دهنده مناسب برای ارقام گیلاس، این روش توصیه می‌شود. در گیلاس درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های ناسازگار معمولاً کمتر از ۳ درصد و در تلاقی‌های سازگار بیش از ۵ درصد است (Choi et al., 2002). با توجه به این موضوع، ارقام زرد دانشکده، صورتی لواسان و حاج یوسفی با رقم رضائیه دگر ناسازگار و ارقام پروتویا و مشکین شهر به ترتیب با ۴۰/۹۴ و ۶۱/۳۶ درصد تشکیل میوه، دگر سازگار هستند.

با توجه به مباحث ذکر شده در بالا، رقم قرمز رضائیه به عنوان یک رقم کاملاً خودناسازگار در نظر گرفته می‌شود (درصد تشکیل میوه برابر صفر). ارقام زرد دانشکده،

اصلاح گیلاس خودسازگار شده است
(Zhu *et al.*, 2004).

بر اساس مشاهدات به عمل آمده، دمای پائین می‌تواند باعث کندی رشد لوله گرده در خامه شود و زمان رسیدن لوله گرده به تخمدان را طولانی و حتی در شرایطی غیرممکن سازد. نتایج تحقیق حاضر در سال اول نشان داد که رشد لوله گرده شدیداً تابع دما است، به طوری که لوله گرده ژنوتیپ‌های سازگار (رقم مشکین شهر) در شاخه‌هایی که در ۱۳ فروردین ماه گرده‌افشانی شده بودند، به دلیل برخورد با دمای پائین، حتی هفت روز پس از گرده‌افشانی به تخمدان نرسیده بودند. در حالی که لوله گرده گل‌های گرده‌افشانی شده در ۲۰ فروردین سال اول چهار روز پس از گرده‌افشانی به تخمدان نفوذ کرده بودند. البته سرعت حرکت لوله گرده در خامه در ارقام مختلف گیلاس متفاوت است و عکس‌العمل‌های متفاوتی را نسبت به دما نشان می‌دهد. رشد لوله گرده رقم کروم در خامه گیلاس رقم ناپلئون در دماهای ۷/۳ و ۹/۹ درجه سانتی‌گراد کندتر از رقم بادا (Bada) بود (Guerrero-Prieto *et al.*, 1985). مطالعه چنین موضوعی در ارقام دیگر و در شرایط سخت می‌تواند از لحاظ عملی حائز اهمیت باشد.

علاوه بر رشد لوله گرده، طول عمر تخمک نیز در تلقیح و باروری مؤثر است. در صورت سرد بودن هوا، تخریب سلول تخمزا دو روز پس از باز شدن گل صورت می‌گیرد. در

ارقام خودسازگار اهمیت چندانی ندارد. اولین رقم خودبارور گیلاس استلا (Stella) بود که در سال ۱۹۷۱ معرفی شد (Lapis, 1971). اخیراً ارقام خودسازگار دیگری نیز اصلاح و معرفی شده‌اند که ارقام اسکی‌نا (Skina)، سویت‌هارت (Sweethart)، سوناتا (Sonata)، سیمفونی (Symphony)، تهران‌وی (Tehranivee)، سان‌برست (Sunburst)، سان‌تینا (Santina)، سامبه (Samba)، ساندراروز (Sandra Rose) و ارقام لاپینز (Lapins)، واندالی (Vanda Lay)، بلک‌گلد (Black Gold)، وایت‌گلد (White Gold)، کشمیر (Cashmere)، کلمبیا (Columbia)، گلاسیر (Glacier)، ایندکس (Index)، لیبرتی‌بل (Liberty Bel)، رد کریستال (Red Crystal) از آن جمله‌اند (Andersen *et al.*, 2001؛ Okie, 2002). با استفاده از این ارقام می‌توان یک باغ یکپارچه از یک رقم ایجاد کرد (عدم نیاز به کشت توأم دو یا چند رقم به منظور دگرگرده‌افشانی) در نتیجه عملیات داشت هماهنگ‌تر و ساده‌تر انجام می‌شود.

با توجه به اهمیت ارقام خودسازگار، امروزه تحقیقات زیادی در این زمینه انجام شده است. اخیراً مشخص شده است که عامل خودسازگاری در گیلاس آلل S_4 است که به کمک اشعه X در آلل S_4 تغییراتی رخ داده است. این تغییر، حذف چهار نوکلئوتید TTTA است. این موضوع باعث پیشرفت قابل توجهی در

پس از گرده‌افشانی بین ۱۷ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد متغیر بود که این مطلوب‌ترین دما جهت رشد لوله‌گرده است. به همین دلیل سازگاری و ناسازگاری ارقام، خود را در شمارش دوم نشان داد در حالی که معمولاً در تحقیق‌های قبلی سازگاری ارقام را در شمارش سوم ذکر کرده‌اند. نتایج آزمایشگاهی هم این امر را تأیید کرد. به طوری که لوله‌گرده این دو رقم سازگار (مشکین‌شهر و پروتیا) در ۹۶ ساعت پس از گرده‌افشانی به تخمدان رقم رضائیه رسیده بود. از طرف دیگر نتایج نشان داد که رشد لوله‌گرده، علاوه بر دما تحت تأثیر ژنوتیپ هم قرار می‌گیرد چرا که رشد لوله‌گرده ارقام دگر ناسازگار (زرد دانشکده، صورتی لواسان و حاج یوسفی) تحت شرایط دمائی یکسان به ناحیه یک سوم میانی خامه نرسیده بود.

در مورد گروه‌بندی ارقام گیلاس در ایران تحقیقی انجام نشده است. گوه‌رخای (۱۳۷۲) نشان داد که ارقام لامبرت و حاج یوسفی به عنوان پایه پدری با رقم قرمز رضائیه و زرد دانشکده ناسازگار هستند و از طرف دیگر اصغری (۱۳۸۲) نیز نشان داد که رقم زرد دانشکده با رقم حاج یوسفی به عنوان پایه مادری ناسازگار است. تحقیق حاضر نیز نشان داد که رقم زرد دانشکده با رقم قرمز رضائیه ناسازگار است. با توجه به نتایج سه تحقیق مذکور و ضابطه‌ای که ارقام درون یک گروه ناسازگاری با هم دگر ناسازگارند، شاید بتوان گفت که ارقام

درختان گیلاس و آلبالو، تخمک‌های مرده را می‌توان از طریق میکروسکوپ فلورسنس تشخیص داد. در این تخمک‌ها، پلی‌ساکارید کالوز در بافت تخمک تجمع می‌یابد. تجمع کالوز در گیلاس، ۵-۴ روز پس از گرده‌افشانی و در آلبالو ۱۰-۳ روز پس از گرده‌افشانی شروع می‌شود و زمان شروع آن در ارقام مختلف، متفاوت است. لوله‌گرده تنها در تخمک‌هایی رشد می‌کند که فاقد کالوز باشند. البته محدود بودن طول عمر تخمک، همیشه یک مشکل محسوب نمی‌شود. در شرایط دمای پایین، در گیلاس رقم ناپلئون و گلابی رقم تساکونیکی (Tsakoniki) که گلدهی آن‌ها در دمای 10°C اتفاق می‌افتد، تخمک گل‌های آن‌ها تا ۱۳ روز پس از گرده‌افشانی سالم باقی می‌ماند. در تحقیق حاضر، زنده بودن و طول عمر تخمک مورد بررسی قرار نگرفت و نتایج تنها با توجه به رشد لوله‌گرده تفسیر شد.

نتایج به دست آمده در سال اول نشان داد که رقم مشکین‌شهر با رقم قرمز رضائیه سازگار است. ولی به دلیل از بین رفتن گل‌های شاخه‌هائی که در ۱۳ فروردین گرده‌افشانی شده بودند، تجزیه و تحلیل آماری انجام نشد و این آزمایش در سال بعد تکرار گردید. در سال دوم نتایج نشان داد که دو رقم مشکین‌شهر و پروتیا با ۶۱/۳۶ و ۴۰/۹۴ درصد تشکیل میوه با رقم قرمز رضائیه سازگار هستند. دلیل این امر (درصد تشکیل میوه زیاد) حاکم بودن بهترین شرایط دمائی پس از گرده‌افشانی در باغ بود. دما

توجه به دگرسازگاری و همپوشانی گل دهی آن‌ها، پلی‌نایزر مناسبی برای رقم قرمز رضائیه خواهند بود و می‌توانند برای گرده‌افشانی رقم قرمز رضائیه به کار روند. مطالعه و مشاهدات میکروسکوپی انجام شده در پژوهش حاضر بر روی رقم قرمز رضائیه و با استفاده از گرده ارقام گرده دهنده، نتایج بررسی‌های انجام شده در باغ این پژوهش را مورد تأیید قرار داد و با توجه به نتایج حاصل از مطالعات باغی و آزمایشگاهی چنین نتیجه‌گیری می‌شود که ارقام مشکین شهر و پروتیوا، ارقام گرده‌دهنده (پلی‌نایزر) مناسبی برای رقم قرمز رضائیه هستند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای دکتر علی ایمانی، مهندس حسن اصغری به خاطر راهنمایی علمی، دانشگاه تربیت مدرس به منظور فراهم نمودن امکانات مالی و اجرایی این تحقیق، از مسئولین و همکاران بخش باغبانی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و باغ کلکسیون کمال‌آباد کرج و همچنین از همکاری آقای مهندس توکلی کارشناس آزمایشگاه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس و تشکر و قدردانی می‌شود.

قرمز رضائیه، حاج‌یوسفی، لامبرت و زرد دانشکده در یک گروه ناسازگاری قرار می‌گیرند و احتمالاً در گروه ناسازگاری ۳ جای دارند.

در کل نتایج نشان داد که رقم قرمز رضائیه یک رقم کاملاً خودناسازگار است (درصد تشکیل میوه برابر صفر) و جهت تشکیل میوه به پلی‌نایزر مناسب نیاز دارد. علاوه بر آن ارقام زرد دانشکده، صورتی لواسان و حاج‌یوسفی با رقم قرمز رضائیه به عنوان پایه مادری دگرناسازگارند و درصد تشکیل میوه با گرده آن‌ها به ترتیب ۰/۵۴، ۰/۲۴ و ۰/۸۰ است. با توجه به پژوهش انجام شده توسط گوهرخای (۱۳۷۲) و تحقیق حاضر از میان هشت رقم ارزیابی شده به عنوان پلی‌نایزر، ارقام مشکین شهر، پروتیوا، دیررس ایتالیا و سیلیژبلادی باریون با رقم قرمز رضائیه دگرسازگار هستند و درصد تشکیل میوه همه آن‌ها بالای ۴۰٪ است. حتی اگر نصف گل‌های درخت رقم قرمز رضائیه با هر کدام از این ارقام گرده‌افشانی شوند، باز هم درصد تشکیل میوه رقم قرمز رضائیه در حد اقتصادی خواهد بود (آستانه اقتصادی بودن باغ گیلاس، تشکیل میوه به میزان ۲۵-۲۰ درصد است). بنابراین ارقام، با

References

منابع مورد استفاده
 ارزانی، ک. ۱۳۶۷. انتخاب بهترین تلقیح کننده برای گیلاس سیاه مشهد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

- اصغری، ح. ۱۳۸۲. مطالعه سازگاری و ناسازگاری برخی از ارقام گیلاس با گیلاس رقم حاج یوسفی. پایان نامه کارشناسی ارشد. گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.
- اصغری، ح.، و ارزانی، ک. ۱۳۸۵. مطالعه سازگاری و ناسازگاری برخی از ارقام گیلاس با گیلاس رقم حاج یوسفی. مجله علوم و صنایع کشاورزی ۲۰ (۳): ۱۹-۱۳.
- سیفی، ا.، و ارزانی، ک. ۱۳۷۷. مطالعه سازگاری و ناسازگاری برخی از ارقام گیلاس در تلقیح و تشکیل میوه گیلاس سیاه مشهد. نهال و بذر ۱۴ (۴): ۳۷-۳۴.
- فتحی، ح. ۱۳۷۶. بررسی جوانه زنی بذور هیبرید گیلاس تحت شرایط مزرعه‌ای و آزمایشگاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد باغبانی. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.
- گوهرخای، ش. ۱۳۷۲. بررسی و انتخاب مناسب ترین تلقیح کننده برای چهار رقم گیلاس تجارته. نهال و بذر ۹ (۳ و ۴): ۳۴-۳۰.

Andersen, R.L., Choi, C. H., and Freer, J. 2001. Sweet cherry pollination consideration for 2001. *New York Fruit Quarterly*, 9 (1): 17-20.

Arzani, K. 1998. The position of cherry culture and breeding in Iran. *Proceedings of International Cherry Breeding, Anniversary Conference. Budapest, Hungary.* Page 55-64.

Arzani, K., and Khalighi, A. 1997. Pre-season pollen collection and outdoor hybridization for pollinizer determination in sweet cherry cv. Siah-Mashad, *Third International Cherry Symposium, July 23-29, Norway and Denmark.* Page 73.

Arzani, K., and Khalighi, A. 1998. Pre-season pollen collection and outdoor hybridization for pollinizer determination in sweet cherry cv. Siah Mashad. *Acta Horticulturae* 468: 575-582.

Boskovic, R., and Tobutt, K. R. 2001. Genotyping cherry cultivars assigned to incompatibility groups, by analysing stylar ribonucleases. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 475-485.

Brown, A. G. 1995. Incompatibility. *John Innes Institute, Annual Report for 1954.* page 7-8.

Choi, C. H., Tao, R., and Andersen, R. L. 2002. Identification of self-incompatibility alleles and pollen incompatibility groups in sweet cherry by PCR based s-allele typing and controlled pollination. *Euphytica* 123: 9-20.

- Crane, M. B., and Brown, A. G. 1937.** Incompatibility and sterility in the sweet cherry (*Prunus avium* L.). Journal of Pomology Horticultural Science 15: 86-116.
- Crane, M. B., and Lawrence, W. J. C. 1929.** Genetical and cytological aspect of incompatibility and sterility in cultivated fruits. Journal of Pomology Horticulture Science 7: 276-301.
- Guerrero-Prieto, V. M., Vasilakakis, M. D., and Lombard, P. B. 1985.** Factors controlling fruit set of 'Napoleon' sweet cherry in Western Oregon. HortScience 20: 913-915.
- Lapins, K. O. 1971.** Stella: A self-fruitful sweet cherry. Canadian Journal of Plant Science 51: 252-253.
- Okie, W. R. 2002.** Register of new fruit and nut varieties list 41. HortScience, 37(2).
- Ortega, E., and Dicenta, F. 2004.** Suitability of four different methods to identify self-compatible seedling in an almond breeding programme. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 79: 747-753.
- Sonneveld, T., Tobutt, K. R., and Robbins, T. P. 2003.** Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) alleles S1 to S16 using consensus and allele-specific primers. Theoretical and Applied Genetics, 107: 1059-1070.
- Tehrani, G., and Lay, J. W. 1991.** Verification through pollen incompatibility studies of pedigrees of sweet cherry from Vineland. HortScience 26: 190-191.
- Wunsch, A., and Hormaza, J.I. 2004a.** Cloning and characterization of genomic DNA sequences of four self-incompatibility alleles in sweet cherry (*Prunus avium* L.). Theoretical and Applied Genetics. 108: 299-305.
- Wunsch, A., and Hormaza, J. I. 2004b.** Molecular evaluation of genetic diversity and S-allele composition of local Spanish sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. Genetic Resources and Crop Evolution 51: 635-641.
- Zhu, M., Zhang, X., Zhang, K., Jiang, L., and Zhang, L. 2004.** Development of a simple molecular marker specific for detecting the self-compatible S₄ haplotype in sweet cherry (*Prunus avium* L.). Plant Molecular Biology Reporter 22: 387-398.

آدرس نگارندگان:

محمد محمودی و کاظم ارزانی - گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی ۳۳۶-۱۴۱۱۵، تهران.
ناصر بوذری - بخش تحقیقات باغبانی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، صندوق پستی ۴۱۱۹، کرج ۳۱۵۸۵.