

# تشخیصی سازگاری پیوند ارقام مهم گلابی ایران روی پایه 'کوئینز A' با استفاده از

## بررسی های ایزوآنزیمی و نشاسته<sup>۱</sup>

### THE ROLE OF ISOZYMES AND STARCH IN GRAFT COMPATIBILITY OF IRANIAN PEAR CULTIVARS ON 'QUINCE A' ROOTSTOCK

حمید حسن پور، غلامحسین داوری نژاد، مجید عزیزی و فرج الله شهریاری<sup>۲</sup>

#### چکیده

این پژوهش به منظور شناسایی ایزوآنزیم‌ها<sup>۳</sup> و تعیین مقدار تجمع نشاسته در بالای محل پیوند به منظور پیش بینی سازگاری بین برخی ارقام گلابی و پایه 'کوئینز A' انجام شد. در این آزمایش ۱۷ رقم گلابی شامل ('نطنز'، 'شکری'، 'ترش'، 'تبریزی'، 'دم کج'، 'کوشیا'، 'خوج آسیابک'، 'اسپادانا'، 'شاه میوه اصفهان'، 'درگزی'، 'بلغاره شماره ۲'، 'فلسطینی'، 'پاسکراسان'، 'بوره هاردی'، 'ژیفارد'، 'آلورت' و 'لیزبون')<sup>۴</sup> که از کلکسیون دانشکده کشاورزی کرج و باغ های آستان قدس رضوی تهیه شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. به منظور انجام آزمایش های الکتروفورز و تعیین میزان نشاسته، از بافت های لایه زاینده و پوست پایه و پیوندک نمونه برداری شد، همچنین برای تعیین نشاسته از چوب پایه ها و پیوندک ها نیز استفاده گردید. تعدادی نوار ایزوآنزیمی در پایه و پیوندک دیده شد ولی بررسی های ما روی نوار A ( $Rf = 0.186$ )<sup>۵</sup> که در 'بوره هاردی' (سازگار) و 'کوئینز A' وجود داشتند، انجام گردید. بودن این نوار در هر پیوندک دلیل بر سازگار بودن آن با 'کوئینز A' (بوره هاردی) و 'پاسکراسان' و نبود آن دلیل بر ناسازگاری پیوند بود (درگزی، 'شاه میوه اصفهان' و 'گلابی ترش'). ولی نوار دیگری که در 'بوره هاردی' وجود داشت، نوار B بود که این نوار در 'کوئینز A' وجود نداشت. وجود این نوار در ارقام گلابی می تواند تا حدودی در سازگار بودن آن ها با 'کوئینز A' موثر باشد (مانند ارقام 'شکری لیزبون'، 'خوج آسیابک'، 'دم کج'، 'تبریزی'، 'کوشیا' و 'بلغاره شماره ۲'). تجزیه و تحلیل داده ها در تعیین مقدار نشاسته نشان داد که ارقام 'نطنز'، 'درگزی'، 'شاه میوه اصفهان'، 'آلورت' و 'ترش' دارای تجمع نشاسته در بالای محل پیوند بودند در حالی که سایر ارقام این پدیده را نشان ندادند. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که ارقام گلابی 'ترش'، 'شاه میوه اصفهان'، 'درگزی' و 'آلورت' ناسازگار با 'کوئینز A' بوده در حالی که رقم 'بوره هاردی' و 'پاسکراسان' سازگار با 'کوئینز A' هستند.

واژه های کلیدی: ایزوآنزیم، 'کوئینز A'، ناسازگاری، نشاسته.

تاریخ پذیرش: ۸۵/۸/۱۷

تاریخ دریافت: ۸۵/۱/۱۹

<sup>۲</sup> به ترتیب دانشجوی پیشین کارشناسی ارشد، استادیاران گروه علوم باغبانی و استادیار گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، جمهوری اسلامی ایران.

۳- Isozymes

۴- 'Koshia'

۵- 'Spadana'

۶- 'Pascrassana'

۷- 'Boure Hardy'

۸- 'Jifard'

۹- 'Aloret'

۱۰- 'Lizbon'

۱۱-  $Rf \text{ value} = [\text{distance of protein migration}] / [\text{distance of tracking dye migration}]$

## مقدمه

یکی از موانع و مشکلات موجود در استفاده از پایه‌های بهنژادی شده در درختان میوه ناسازگاری پیوند است. ناسازگاری پیوند ممکن است ناشی از دلایل ژنتیکی، فیزیولوژیکی یا تشریحی باشد (۸). مور<sup>۱</sup> (۱۲) نشان داد که ناسازگاری پیوند ممکن است به دلیل نبود تمایز آوندی و تولید نشدن آوندهای آبکش جدید، یا در اثر نکرورز یاخته ای در محل پیوند باشد. این پدیده‌ها باعث خوب جوش نخوردن پایه و پیوندک و چوبی نشدن<sup>۲</sup> یاخته های محل پیوند می‌شود (۱۹). در دهه‌های گذشته، ناسازگاری پیوند بر اساس نشانه‌های فیزیکی از قبیل برآمدگی محل پیوند، زرد شدن برگساره‌ها، کاهش رشد رویشی و تفاوت در میزان رشد پایه و پیوندک شناخته می‌شد (۸). از جمله معایب این روش این بود که ممکن است پیدایش این نشانه ها سال ها طول بکشد و همچنین مشاهده های تشریحی اولیه، ممکن است با ناسازگاری پیوند همبستگی نداشته باشد (۱).

سانتامور و همکاران<sup>۳</sup> (۱۶) گزارش کردند که بررسی ایزوآنزیمی پیوندک و پایه‌ها می‌تواند برای پیش بینی ناسازگاری پیوند موزد استفاده قرار گیرد. هنگامی که ایزوآنزیم‌های پایه و پیوندک با هم هماهنگی داشته باشند، پیوستگی آوندی مطلوب بوده و پیوند سازگار است. همچنین گولن و همکاران<sup>۴</sup> (۴) بیان داشتند که بررسی ایزوآنزیم‌ها یکی از روش های استفاده شده برای پیشگویی ناسازگاری است و دو ایزو پراکسید آوندی<sup>۵</sup> می‌تواند به عنوان نوارهای شاخص در ارتباط با سازگاری و ناسازگاری پیوند گلابی روی پایه به مورد استفاده قرار گیرد. نتایج آزمایش‌های گولن و همکاران (۶) نشان داد که نوار موسوم به نوار A به طور کامل با سازگاری گلابی روی پایه به در ارتباط است.

موس<sup>۶</sup> (۱۳) نشان داد که تجمع نشاسته در بالای محل پیوند و نبود یا کمبود آن در زیر محل پیوند باعث فساد آوند آبکش می‌شود که این پدیده در نتیجه تجمع نشاسته در آوند آبکش صورت می‌گیرد. هیرو<sup>۷</sup> (۹) گزارش کرد که آن دسته از ترکیب های پیوندی که رشد ضعیفی دارند، نه تنها منجر به غیر طبیعی شدن ساختار محل پیوند می‌شود، بلکه به طور معمول با توزیع غیر طبیعی نشاسته در ارتباط است. همچنین میزان سازگاری پیوندک و پایه روی تشکیل اسیمیلات‌ها<sup>۸</sup> و انتقال و انتشار آن ها بین اندام های هوایی و زیر زمینی تأثیرگذار است. با افزایش شدت ناسازگاری، نسبت مواد نشاسته‌ای به مواد خشک کل در برگ ها و شاخساره‌ها به صورت خطی کاهش می‌یابد. بنابراین، این پدیده نشانگر خوبی برای ارزیابی ناسازگاری پیوند به حساب می‌آید (۹). مندل و کوهین<sup>۹</sup> (۱۰) نشان دادند که توزیع نشاسته بین قسمت های مختلف درختان پیوندی گویای این است که بررسی ارتباط بین سوخت و ساز نشاسته با ناسازگاری پایه و پیوندک دارای اهمیت است. با این وجود، در بررسی دیگری دیده شد که با این که پیوند گیلان روی پایه مطب، نشانه های ناسازگاری را نشان می‌دهد، ولی تفاوتی از نظر مقدار نشاسته در بالا و پایین محل پیوند وجود ندارد (۱۰). با توجه به ویژگی های پایه 'کوئینز A' و همچنین نبود گزارشی در مورد سازگاری این پایه با ارقام مهم گلابی ایرانی، پژوهش حاضر برای بررسی ایزوآنزیم های پراکسیداز و فرآیند تجمع نشاسته در بالای محل پیوند در ارقام مهم گلابی ایران روی پایه 'کوئینز A' انجام گردید. هدف از انجام این آزمایش، شناسایی نوارهای عمومی موجود در پایه 'کوئینز A' و ارقام مختلف گلابی و شناسایی ارقام سازگار و ناسازگار با پایه 'کوئینز A' توسط این دو شاخص بود.

|                          |                 |                     |                    |          |
|--------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Rf- 0.68 and Rf- 0.86 -۵ | Gulen et al. -۴ | Santamour et al. -۳ | Delignification -۲ | Moore -۱ |
| Mendel and Cohen -۹      |                 | Assimilates -۸      | Herrero -۷         | Mosse -۶ |

## مواد و روش ها

این آزمایش در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. پایه ریشه دار 'کوئینز A' از باغ‌های آستان قدس رضوی تهیه گردید. تعداد ۸ رقم گلابی ایرانی و ۹ رقم گلابی خارجی روی پایه 'کوئینز A' پیوند شدند. ارقام استفاده شده در این آزمایش نیز از کلکسیون نهال و بذر کرج و باغ‌های آستان قدس رضوی تهیه شدند. پایه‌ها در دی ماه ۱۳۸۲ درون گلدان کشت گردیدند و سپس پیوندک‌ها با کوپیوند سپری (T) روی پایه‌ها قرار داده شدند. ارقام استفاده شده در این آزمایش عبارت بودند از:

- ۱- ارقام ایرانی: 'نطنز'، 'شکزی'، 'ترش'، 'تیزی'، 'دم کج'، 'خوج آسیابک'، 'شاه میوه اصفهان' و 'درگزی'.
- ۲- ارقام خارجی: 'بلغاره شماره ۲'، 'فلسطینی'، 'پاسکراسانا'، 'بوره‌هاردی'، 'زیفارد'، 'آلورت'، 'لیزبون'، 'کوشیا' و 'اسپادانا'.

برای بررسی های ایزوآنزیمی نمونه‌هایی از بافت های لایه زاینده و پوست پایه، پیوندک و محل پیوند در ۲ سال پس از انجام پیوند، با یک چاقوی تیز تهیه گردید. سپس نمونه‌ها به سرعت در نیتروژن مایع قرار داده شد و در دمای  $-80^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا در موقع لزوم استفاده شوند. همه نمونه‌ها ۳ بار عصاره‌گیری شده و به میزان ۲۰ میکرو لیتر در چاهک‌ها تزریق شدند. برای استخراج آنزیم پراکسیداز از روش گولن و همکاران (۴) استفاده شد. مقداری از بافت های خرد شده (۰/۰۶ گرم) در ۰/۶ میلی لیتر بافر استخراج (پتاسیم فسفات، اسید بوریک، اسکوریبک اسید، سدیم متابی سولفیت، دیتو کربامیک اسید، EDTA، PVP-40، ۲ مرکاپتو اتانول، pH ۷/۵) قرار داده شده و برای چند دقیقه به هم زده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد با ۱۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در پایان مایع رویی برای انجام الکتروفورز مورد استفاده قرار گرفت.

از روش گولن و همکاران (۴) با کمی تغییر برای الکتروفورز ژل آکریل امید استفاده شد. در این سیستم ژل بالایی ۵٪ و ژل پایینی ۱۲/۵٪ بود. پس از تزریق نمونه‌ها درون چاهک‌ها، ابتدا به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰ میلی آمپر و سپس به مدت ۲۰-۴۰ دقیقه در ۲۰ میلی آمپر و در پایان ادامه کار با ۴۰ میلی آمپر الکتروفورز انجام شد.

برای رنگ آمیزی ژل از روش وندیل و ویدن<sup>۴</sup> (۱۸) استفاده شد. مواد مورد نیاز برای رنگ آمیزی شامل: بافر استات سدیم، کلرید کلسیم، هیدروژن پراکسید، ۳- آمینو-۹- اتیل کربازول<sup>۵</sup> و N و N-دی متیل فرمامید<sup>۶</sup> بود و رنگ آمیزی به مدت یک شب انجام شد.

برای تعیین مقدار نشاسته از بافت های پوست و چوب و مغز بالا و پایین محل پیوند با استفاده از روش زاپاتا و همکاران<sup>۷</sup> (۲۰) استفاده گردید. در این روش بافت‌ها در نیتروژن مایع خرد گردیده و سپس جهت استخراج نشاسته از آن‌ها، در دی متیل سولفوکسیداز<sup>۸</sup> ۹۰٪ به مدت یک ساعت در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در  $12000$  دور سانتریفیوژ شدند. برای تعیین مقدار نشاسته از اسپکتروفتومتر در طول موج  $620$  نانومتر استفاده شد. برای خواندن میزان جذب نور، عصاره‌های مورد نظر

۲- 2 mercapto ethanol

۲- Polyvinylpyrrolidone

۱- Ditio carbamic acid

۶- N,N dimetyle formamide

۵- 3-amino- 9 etyle carbazol

۴- Wendel and Weeden

۸- Dimetyl solfoxidase

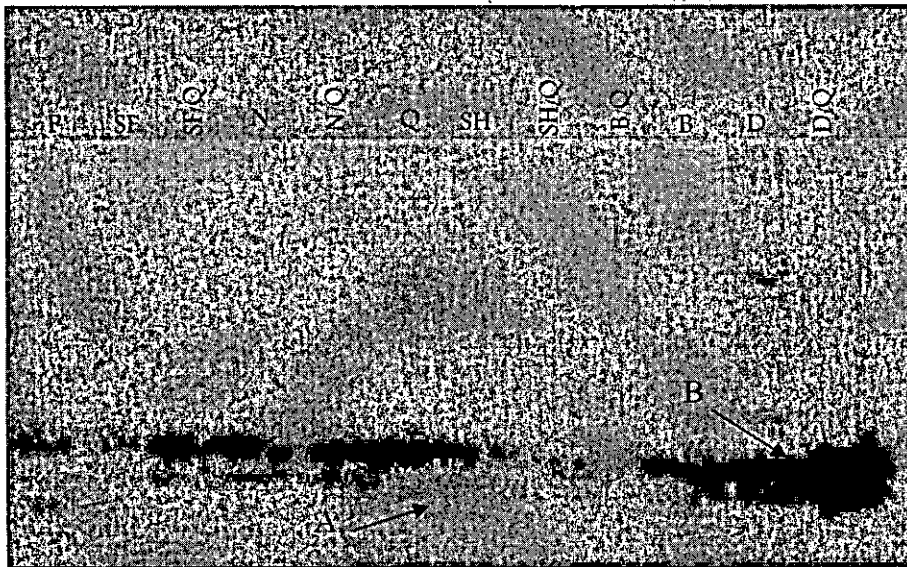
۷- Zapata et al.

با محلول یدی (ید خالص + یدید پتاسیم + اسید کلریدریک) واکنش داده شده و سپس در اسپکتروفتومتر قرار داده شدند. در پایان برای مشخص نمودن تجمع نشاسته در بالای محل پیوند میزان جذب ها با هم با آزمون دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

## نتایج و بحث

### رابطه ایزوآنزیم ها و ناسازگاری پیوند

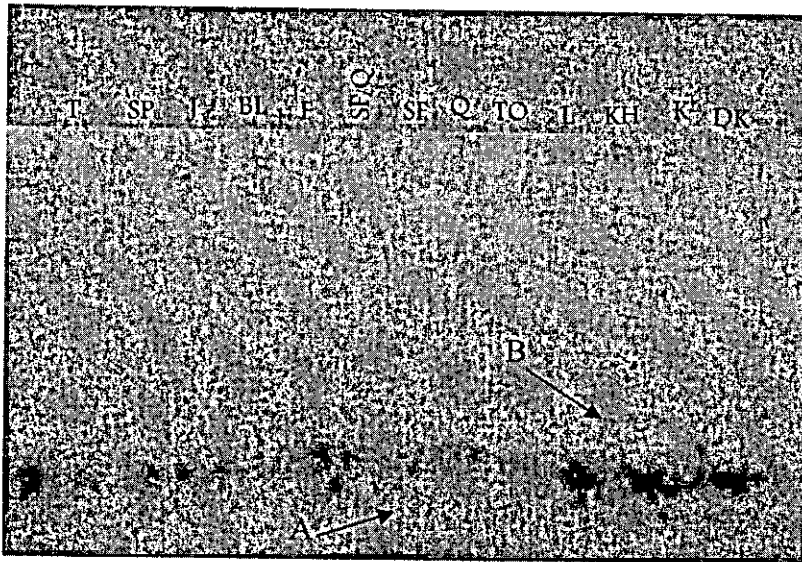
نوارهای به دست آمده از ایزوپراکسیدهای پیوندک ها و محل های پیوند ترکیب های مختلف پیوندی در شکل های ۱ و ۲ آمده است. همان گونه که در شکل ۱ دیده می شود، دو نوار A و B در 'بوره هاردی' وجود دارد. با توجه به این که این رقم سازگار با 'کوئینز A' شناخته شده است (۴، ۵)، بنابراین می توان از این رقم برای مقایسه رقم های دیگر استفاده کرد. بر اساس بررسی های انجام شده این دو نوار می توانند در سازگاری و ناسازگاری پیوند گلابی روی 'کوئینز A' نقش داشته باشند (۴، ۵، ۶، ۹). با آن که نوار B در کوئینز A دیده نمی شود ولی می توان از حضور این نوار در ارقام گلابی به عنوان نشانه ناسازگاری پایه و پیوندک استفاده کرد. نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان داد که هر دو نوار A و B در 'بوره هاردی' وجود دارند ولی در 'کوئینز A'، نوار B وجود نداشت. گولن و همکاران (۴) معتقدند که تنها وجود نوار A دلیل بر ناسازگاری است. با این که در این جا نوار B به عنوان دلیلی بر ناسازگاری ذکر نشده است ولی می توان این گونه تفسیر کرد که وجود نوار B می تواند به عنوان یک نشانگر نیمه سازگاری ارقام گلابی روی 'کوئینز A' مطرح باشد (جدول ۱).



P: 'پاسکراسان'  
SF: 'شاه میوه اصفهان'  
N: 'نطنز'  
Q: 'کوئینز'  
SH: 'شکری'  
B: 'بوره هاردی'  
D: 'درگزی'

Fig. 1. Zymogram peroxidase isozymes for several pear cultivars and 'Quince A'.

شکل ۱- الگوی نواری ایزو آنزیم های پراکسیداز در ارقام مختلف گلابی پیوند شده روی پایه 'کوئینز A'.



T: 'تبریزی'  
 SP: 'اسپادانا'  
 J: 'ژیفارد'  
 BL: 'بلغاره #۷'  
 F: 'قلسطینی'  
 SF: 'شاهمیوه اصفهان'  
 Q: 'کوئینز'  
 TO: 'ترش'  
 L: 'لیزیون'  
 KH: 'خوج آسیابک'  
 K: 'کوشیا'  
 DK: 'دم کج'

Fig. 2. Zymogram peroxidase isozymes for several pear cultivars and 'Quince A'.

شکل ۲- الگوی نواری ایزوآنزیم های پراکسیداز در ارقام مختلف گلابی پیوند شده روی پایه 'کوئینز A'.

رقم 'پاسکراسان' که در بیشتر منابع علمی (۳) رقم سازگار با 'کوئینز A' معرفی شده است دارای نوار A ولی بدون نوار B بود. نوار های این رقم تاحدودی شبیه نوار های 'کوئینز A' بود که این موضوع سازگار بودن این رقم را با 'کوئینز A' نشان می دهد. این نتایج با نتایج سانتامور و همکاران (۱۶) در مورد افرای قرمز همسویی نداشت، شاید این موضوع به دلیل متفاوت بودن نوع گیاه باشد. ولی نتایج ما با نتایج گولن و همکاران (۴) به طور کامل همسو بود. بر اساس گزارش آن ها تنها حضور نوار A می تواند در سازگاری پیوند نقش داشته باشد. حضور یا نبود پراکسیدازها ممکن است به دلیل تغییر بیان ژن باشد. این تغییرها ممکن است به وسیله یک سیگنال تولید شده در تماس بین پایه و پیوندک ایجاد شده باشد (۴).

رقم 'درگزی' دارای نوار B ولی فاقد نوار A بود در حالی که در 'شاه میوه اصفهان' هیچ کدام از این نوارها وجود نداشتند. محل پیوند در رقم 'درگزی' تنها دارای نوارهای پیوندک بود، البته نوار B در محل پیوند ضعیف تر بود. این موضوع نشان می دهد که پایه روی پیوندک تاثیر گذاشته است. ضعیف بودن نوار B در محل پیوند می تواند به دلیل ناسازگار بودن رقم 'درگزی' با کوئینز A باشد. بر اساس بررسی های مورفولوژیکی که در باغ های آستان قدس انجام گرفته (۲) رقم گلابی 'نطنز' با 'کوئینز A' به طور کامل ناسازگار است. بررسی های ایزوآنزیمی روی این رقم نیز نشان داد که این رقم دارای نوارهای A و B نمی باشد و این نتایج می تواند نتایج به دست آمده از بررسی های مورفولوژیکی و تجمع نشاسته را تایید کند. چگونگی عملکرد پراکسیداز در سازگاری ناسازگاری پیوند به طور روشن مشخص نشده است. هارکین و اوبست<sup>۱</sup> (۷) گزارش کردند که پراکسیداز تنها آنزیم موثر در پلیمریزسیون الکل-P-کومارین<sup>۲</sup> به چوب است و این موضوع اساس انجام پژوهش های بیشتری را در زمینه ایزوپراکسیدازهای لایه زاینده و سازگاری پیوند فراهم کرده است.

جدول ۱- نوارهای ایزوآنزیمی پراکسیداز در 'کوئینز A' و ارقام گلایی همراه با پاسخ پایه و پیوندک ها.

Table 1. Peroxidase isozyme bands in 'Quince A' and pear cultivar with scions and rootstock responses.

| پاسخ پایه و پیوندک<br>Scions and rootstock<br>responses | نوارهای ایزوآنزیمی<br>پراکسیداز<br>Isozyme bands<br>of peroxidase |   | پایه / پیوندک<br>Rootstock/scion           |
|---|---|---|--|
| سازگار/ناسازگار<br>Incompatible/Compatible              | B   | A | پایه<br>Rootstock                          |
|   | -   | + | 'کوئینز A'<br>'Quince A'                   |
| سازگار<br>Compatible                                    | -   | + | 'پاسکراسان'<br>'Pascrassana'               |
| ناسازگار<br>Incompatible                                | -   | - | 'شاه میوه اصفهان'<br>'Shah miveye esfahan' |
| ناسازگار<br>Incompatible                                | -   | - | 'نطنز'<br>'Natanz'                         |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'شکری'<br>'Shekari'                        |
| سازگار<br>Compatible                                    | +   | + | 'بوره هاردی'<br>'Boure Hardy'              |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'درگزی'<br>'Dargazi'                       |
| سازگار<br>Compatible                                    | +   | + | 'تبریزی'<br>'Tbrizi'                       |
| ناسازگار<br>Incompatible                                | -   | - | 'اسپادانا'<br>'Spadana'                    |
| ناسازگار<br>Incompatible                                | -   | - | 'ژیفارد'<br>'Jifard'                       |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'بلغاره شماره ۲'<br>'Bolghareh #2'         |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'فلسطینی'<br>'Palistainy'                  |
| ناسازگار<br>Incompatible                                | -   | - | 'ترش'<br>'Torsh'                           |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'لیزبون'<br>'Lizbon'                       |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'خوج آسیابراک'<br>'Khoj asiabrak'          |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'کوشیا'<br>'Koshiya'                       |
| نیمه سازگار<br>Partially compatible                     | +   | - | 'دم کج'<br>'Domkaj'                        |

گولن و همکاران (۶) گزارش کردند که چوبی شدن برای تشکیل یک پیوند قوی و همیشگی ضروری است. ایزوآنزیم‌های پراکسیداز پلیمریزسیون الکل‌های سینامیک به لیگنین را تنظیم می‌کند. بیشترین شباهت نوارهای ایزوآنزیم بین پایه و پیوندک، با بیشترین سازگاری بلند مدت همراه است. همچنین، سانتامور و همکاران (۱۶) بیان کردند که نبود یکسانی در ترکیب ایزوپراکسیدازهای بین پایه و پیوندک می‌تواند منجر به چوبی شدن غیر طبیعی و همچنین نبود فقدان اتصال آوندی در محل پیوند گردیده و باعث به یک ترکیب ناسازگار شود. بنابراین تفاوت ایزوپراکسیداز در تولید چوب، ساختار متفاوتی دارد. برخی یافته‌های پژوهشی راجع به روابط بین الگوهای ایزوآنزیمی پراکسیداز و ناسازگاری پیوند در گیاهان مختلف نشانگر از این است که جور شدن نوارهای ایزوپراکسیداز بین پایه و پیوندک می‌تواند به عنوان یک شاخص افزایش پیوندی به کار رود (۱۵، ۱۶).

گولن و همکاران (۴) اثبات کردند که روابط معنی‌داری بین الگوهای نواری ایزوپراکسیداز لایه زاینده و سازگاری پیوند در ارقام گلابی و همگروه‌های کوئینز وجود دارد که به صورت دو نوار ایزوپراکسیداز A و B در ترکیب گلابی روی پایه به آشکار گردید. در این بررسی تعدادی نوار دیده شد، ولی تنها دو نوار A و B همان طوری که گولن و همکاران (۴) نیز به این نوارها اشاره کرده بودند، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. نتایج بررسی حاضر با بررسی‌های سانتامور و همکاران (۱۷) روی افرای قرمز و گولن و همکاران (۴، ۶) روی گلابی و همگروه‌های کوئینز همسویی داشت.

بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش رقم 'درگزی' دارای نوار A نبود ولی با وجود نوار B می‌توان بیان کرد که این رقم نیمه ناسازگار با 'کوئینز A' می‌باشد. همچنان که نتایج آزمایش‌های گولن و همکاران (۶) نشان داد که نوار A با سازگاری گلابی روی پایه به در ارتباط است که این نوار در ارقام 'کوئینز A' و 'بوره هاردی' وجود داشت. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که 'نطنز' و 'شاه میوه اصفهان' هیچ کدام از نوارهای A و B را ندارد ولی در عوض یک سری نوارهای دیگری دارند که در 'کوئینز A' وجود ندارد. بنابراین نبود این نوار از یک طرف و همچنین جور نشدن یا یکسان نبودن نوارهای پایه و پیوندک بر اساس بررسی گولن و همکاران (۴) و سانتامور و همکاران (۱۶)، می‌تواند دلیل بر ناسازگار بودن ارقام 'نطنز' و 'شاه میوه اصفهان' با 'کوئینز A' باشد. آن‌ها در بررسی گزارش کردند که بررسی ایزوآنزیمی از پیوندک و پایه می‌تواند برای پیشگویی ناسازگاری پیوند در ارقام مختلف فندق چینی استفاده شود. براین اساس، هنگامی که پدیدگان‌های (فنتیپ‌های) ایزوآنزیمی پراکسیداز از پایه و پیوندک جفت می‌شوند، منجر به سازگاری پیوند و پیوستگی آوندی می‌شود. در مقابل اگر پدیدگان‌های ایزوآنزیمی از الگوهای پیوند متفاوت باشند، پینه‌ها در محل پیوند جفت نمی‌شوند (۱۶). همان گونه که در شکل ۲ نیز دیده می‌شود، هیچ کدام از میان پایه‌ها دارای نوار A نبودند. در حالی که نوار B در بیشتر آن‌ها وجود داشت.

در گلابی 'ترش' که بر اساس بررسی‌های مورفولوژیکی و نشاسته‌ای ناسازگار تشخیص داده شد. بررسی‌های ایزوآنزیمی نشان داد که هیچ کدام از نوارهای A و B در آن وجود ندارد. نبود نوار B در گلابی 'ترش' می‌تواند به نقش داشتن این نوار در ناسازگاری پیوند کمک کند. بنابراین با تکیه بر این مطلب می‌توان از وجود این نوار به عنوان نشانه سازگاری استفاده کرد. هر چند که گولن و همکاران (۴) گزارش کرده بودند که تنها وجود نوار A دلیل بر سازگاری پیوند است. ولی آن‌ها در بررسی دیگری نشان دادند که هر دو نوار A و B می‌تواند در سازگاری نقش داشته باشد. حضور هر دو نوار یا یکی از آن‌ها در پیوندک می‌تواند دلیل بر سازگاری آن رقم باشد. بنابراین وجود نوار B در ارقام 'شکری'، 'لیزبون'، 'خوج‌آسیابک'، 'دم‌کچ'، 'تبریزی'، 'کوشیا'، 'بلغاره شماره ۲' و 'فلسطینی' می‌تواند دلیل بر سازگار بودن این ارقام با 'کوئینز A' باشد. همچنین

'تبریزی'، 'کوشیا'، 'بلغاره شماره ۲' و 'فلسطینی' می تواند دلیل بر سازگار بودن این ارقام با 'کوئینز A' باشد. همچنین نبود نوار B در ارقام گلابی 'ترش'، 'آلورت' و 'شاه میوه اصفهان' ناسازگاری این ارقام را با 'کوئینز A' نشان می دهد. گولن و همکاران (۴) نشان داده بودند، تا کنون پژوهش های کمی در مورد اساس مولکولی روابط پایه و پیوندک صورت گرفته است، به ویژه در مورد ارقام ایرانی گلابی هیچ بررسی ایزوآنزیمی انجام نگرفته است. بنابراین شاید با بررسی بیشتر در این زمینه بتوان نوارهای دیگری را که در ناسازگاری پیوند نقش دارند پیدا نمود تا بتوان در مورد پیش بینی ناسازگاری پیوند با اطمینان بیشتری اظهار نظر کرد. همان طور که از شکل های ۱ و ۲ مشهود است، به طور معمول نوار های محل پیوند تا حدودی تاریک تر و تیره تر از نوار های پیوندک و پایه هستند. نتایج این آزمایش مشابه نتایج گولن و همکاران (۴) بود، آن ها گزارش کردند که نوار های محل پیوند در ترکیب پیوندی پایه های مختلف کوئینز با 'بوره هاردی' و 'بارتلت'، تیره تر از نوار هایی بود که هرکدام آن ها به تنهایی نشان می دادند.

### رابطه مقدار نشاسته و ناسازگاری پیوندها

نتایج مربوط به مقدار نشاسته در جدول ۲ آمده است. همان طور که دیده می شود، بیشترین میزان تجمع نشاسته در بالای محل پیوند مربوط به رقم 'آلورت' می باشد. 'شاه میوه اصفهان' و 'درگزی' دو رقمی بودند که بر اساس بررسی های مورفولوژیکی احتمال می رفت با 'کوئینز A' ناسازگار باشند. این دو رقم از لحاظ تجمع نشاسته در بالای محل پیوند نیز دارای نشاسته به تقریب بیشتری بودند. گلابی 'ترش' یکی دیگر از رقم هایی است که تجمع نشاسته بیشتری را در بالای محل پیوند نشان داد.

'نطنز' و 'شکری' نیز دارای تجمع نشاسته در بالای محل پیوند بودند، ولی این تجمع در 'شکری' کمتر از 'نطنز' بود. به طوری که می توان این مقدار تجمع را عادی در نظر گرفت. زیرا که در 'پاسکراسان' که بر اساس بررسی های انجام گرفته (۳) یک رقم سازگار با 'کوئینز A' می باشد، این مقدار تجمع نشاسته در بالای محل پیوند وجود داشت. بنابراین یک مقدار تجمع نشاسته در رقم 'شکری' حالت طبیعی است. ولی 'نطنز' تجمع نشاسته بیشتری در بالای محل پیوند داشت، بنابراین می توان گفت که به احتمال این پیوندک به طور مستقیم با 'کوئینز A' دارای ناسازگاری پیوند است. همچنان که موینگ و گوادیلار (۱۱) نیز در بررسی گزارش کرده بودند که ۷۸ روز پس از پیوند غلظت سوربیتول در ریشه های پیوند ناسازگار نسبت به پیوند سازگار پایین تر می باشد، در حالی که قندهای محلول و نشاسته در پیوندک ناسازگار تجمع می یابد. بنابراین تجمع نشاسته در بالای محل پیوند می تواند دلیل بر ناسازگاری پیوند باشد.

رم و رابرت (۱۴) نشان دادند که تجمع نشاسته در بالای محل پیوند و به تقریب نبود آن در زیر این محل باعث فساد بافت آبکش و در پایان بسته شدن آوندی می شود. البته نبود نشاسته در پایین محل پیوند به ندرت دیده شده است. حتی در بعضی مواقع مقدار نشاسته در پایین محل پیوند خیلی بیشتر از بالای محل پیوند بود. همچنان که اشاره خواهد شد مقدار نشاسته در بالا و پایین محل پیوند در ترکیب های مختلف پیوندی متفاوت است. بنابراین نابودی آوندهای آبکش در اثر تجمع نشاسته است که باعث ناهنجاری هایی در محل پیوند و در پایان ناسازگاری در ترکیب پیوندی ویژه ای می شود.



جدول ۲- مقدار نشاسته در پوست و چوب بالا و پایین محل پیوند ارقام مختلف گلابی روی 'کوئینز A' (درصد بر اساس وزن تر).

Table 2. The amount of starch in wood and bark above and below the graft union of several pear cultivars on 'Quince A' (% based on fresh weight).

مقدار نشاسته Amount of starch

| مقدار تجمع در بالای محل پیوند<br>Amount of starch above the graft union | بالای محل پیوند<br>Above the graft union | پایین محل پیوند<br>Below the graft union | ارقام گلابی<br>Pear cultivars              |
|---|--|--|--|
| 0   | 0.034cde                                 | 0.038b                                   | 'بلغاره شماره ۲'<br>'Bolghareh #2'         |
| 0.001   | 0.037bc                                  | 0.036bc                                  | 'فلسطینی'<br>'Palistainy'                  |
| 0.005   | 0.036bcd                                 | 0.031bcd                                 | 'ترش'<br>'Torsh'                           |
| 0   | 0.033cde                                 | 0.034bcd                                 | 'تبریزی'<br>'Tabrizi'                      |
| 0.002   | 0.040ab                                  | 0.038b                                   | 'پاسکراسانا'<br>'Pascrassana'              |
| 0   | 0.032de                                  | 0.035bcd                                 | 'دم کج'<br>'Domkaj'                        |
| 0.001   | 0.034cde                                 | 0.033cd                                  | 'کوشیا'<br>'Koshiya'                       |
| 0   | 0.033cde                                 | 0.033cd                                  | 'خوج آسیابراک'<br>'Khoj Asiabrak'          |
| 0   | 0.036cd                                  | 0.043a                                   | 'بوره هاردی'<br>'Boure Hardi'              |
| 0   | 0.031e                                   | 0.034bcd                                 | 'اسپادانا'<br>'Spadana'                    |
| 0   | 0.034cde                                 | 0.034bcd                                 | 'ژیفارد'<br>'Jifard'                       |
| 0.006   | 0.043a                                   | 0.037bc                                  | 'آلورت'<br>'Aloret'                        |
| 0.001   | 0.032de                                  | 0.031d                                   | 'لیزبون'<br>'Lizbon'                       |
| 0.003   | 0.040ab                                  | 0.037bc                                  | 'شاه میوه اصفهان'<br>'Shah miveye isfahan' |
| 0.004   | 0.037bc                                  | 0.033cd                                  | 'درگزی'<br>'Daraghazi'                     |
| 0.004   | 0.040ab                                  | 0.036bc                                  | 'نطنز'<br>'Natanz'                         |
| 0.002   | 0.033cde                                 | 0.031d                                   | 'شکری'<br>'Shekari'                        |

† Means with the same letters are not significantly different at 5% using Duncan's multiple range test.

† میانگین هایی که دارای حروف یکسان می باشند از نظر آماری در سطح ۵٪ در آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوتی ندارند.

ارقام 'فلسطینی'، 'کوشیا' و 'لیزبون' نیز دارای تجمع نشاسته در بالای محل پیوند بودند ولی این مقدار نسبت به سایر ارقام کمتر بود. تجمع نشاسته در بالای محل پیوند از یک حدی به بالا می تواند مشکل ساز باشد که در اینجا 'پاسکراسان' به عنوان شاهد مورد نظر قرار گرفت و سایر ارقام نسبت به آن سنجیده شد. بنابراین با توجه به این که در 'پاسکراسان' میزان تجمع نشاسته ۰/۰۲ بود، می توان گفت که تجمع نشاسته در بالای محل پیوند در این ارقام می تواند عادی باشد. البته در ارقام مختلف مقدار مشکل ساز بودن تجمع نشاسته در بالای محل پیوند می تواند تفاوت داشته باشد. به طوری که 'بوره هاردی' مقدار نشاسته کمتری در بالای پیوند نسبت به پایین محل پیوند داشت ولی در 'پاسکراسان' که یک رقم سازگار با 'کوئینز A' می باشد، مقدار نشاسته بیشتری در بالای محل پیوند نسبت به پایین آن وجود داشت.

ارمل و همکاران<sup>۱</sup> (۳) در بررسی بیان کردند که محتوای نشاسته کل در محل پیوند ترکیب های مختلف پیوندی به طور شدیدی تغییر می کند. محتوای نسبی نشاسته بافت های پایه و پیوندک تحت تاثیر نوع ترکیب پیوندی قرار می گیرد. در ترکیب های ناسازگار، محتوای نسبی نشاسته در چوپ پیوندک بیشتر از چوپ پایه است. همچنین در ناسازگاری منتقل شونده تجمع نشاسته و قندهای محلول در پیوندک، نیز دیده شده است که در این حالت هیچ تجزیه و تغییرهای ساختاری آبکش در محل پیوند دیده نمی شود. این مطلب با فساد آبکش در اثر تجمع نشاسته که رم و رابرت (۱۴) به آن اشاره کرده بودند، ناهمو است. ولی آنچه مسلم است این است که، آوند آبکش در هر صورت تخریب می شود. رم و رابرت (۱۴) در بررسی بیان کردند که ترکیب های پیوندی که ضعف گیاه را به دنبال دارد، از غیر طبیعی بودن ساختار محل پیوند ناشی نمی شود بلکه به طور معمول با توزیع غیر طبیعی نشاسته در ارتباط است. بنابراین در این صورت به احتمال توزیع غیر طبیعی نشاسته باعث فساد آبکش و در پایان مرگ درخت می شود. ولی اگر یک بررسی از لحاظ مقایسه ارقام در مقدار نشاسته در بالا و پایین محل پیوند داشته باشیم، دیده می شود که بیشترین مقدار نشاسته در پایین محل پیوند در 'بوره هاردی' و کمترین مقدار نشاسته در پایین محل پیوند در 'شکری'، 'لیزبون' و 'ترش' وجود دارد.

همچنان که در جدول ۲ نیز دیده می شود بیشترین مقدار نشاسته در بالای محل پیوند در 'آلورت' و کمترین مقدار آن در 'اسپادانا' بود. آنچه که مسلم است، رقمی که مقدار نشاسته بیشتری در بالای محل پیوند داشته باشد، احتمال تجمع آن در بالای پیوند وجود دارد. پایین بودن مقدار نشاسته در بالای محل پیوند دلیل بر نبود تجمع نشاسته در بالای پیوند نیست همچنان که در گلابی 'ترش' با وجود این که مقدار نشاسته کمتری در بالای پیوند دارد، ولی بیشترین تجمع نشاسته در بالای محل پیوند مربوط به این رقم می باشد. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که ارقام 'نطنز'، 'درگزی'، 'شاه میوه اصفهان'، 'آلورت' و 'ترش' دارای تجمع نشاسته در بالای محل پیوند بودند در حالی که در سایر ارقام تجمع نشاسته در بالای محل پیوند دیده نشد یا خیلی جزئی بود. همچنین، باید توجه کرد که یک رقم ممکن است افزون بر بروز نشانه های ناسازگاری هیچ تجمع نشاسته ای در بالای محل پیوند نداشته باشد یا این که ممکن است برعکس این حالت رخ دهد. همچنان که رم و رابرت (۱۴) بیان کردند که توزیع نشاسته بین قسمت های مختلف درختان پیوند شده می رساند که بررسی سوخت و ساز آن در ارتباط با ناسازگاری پایه و پیوندک دارای اهمیت است و می توان از وجود اختلاف بین مقدار نشاسته در بالا و پایین محل پیوند به ناسازگاری پیوند پی برد. با وجود این در بررسی که گیلاس روی پایه محلب پیوند شده بود، هر چند که نشانه های ناسازگاری را نشان می دادند، ولی تفاوتی بین مقدار نشاسته در بالا و پایین محل پیوند و

یا بالا و پایین محل تیمارهای مکانیکی یافت نشده است. بنابراین درست است که در برخی از ارقام تجمع نشاسته در بالای محل پیوند رخ نمی‌دهد، ولی نشانه‌های ناسازگاری در آن‌ها وجود دارد، که این می‌تواند ناسازگار بودن آن‌ها را نشان دهد (۱۴).

## سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه موبسسه نهال و بذر کرج و سازمان آستان قدس رضوی برای تامین پایه و پیوندک مورد نیاز تقدیر می‌شود.

## REFERENCES

## منابع

1. Andrews, P.K. and C.S. Marquez. 1993. Graft incompatibility. In: J. Janick (ed.) Hort. Rev. 183-231.
2. Davarynejad, G.H. 2004. Comparative field performance of incompatible pear cultivars Natanz, Seбри and Shekari buded on Quince A rootstock. 8<sup>th</sup> International Symposium on Integrating Canopy Rootstock and Environmental Physiology in Orchard System. Budapest, Hungary.
3. Ermel, F.F., J. Kervella., A.M. Catesson and J.L. Poessel. 1999. Localized graft incompatibility in pear/quince (*Pyrus communis*/*Cydonia oblonga*) combinations: multivariate analysis of histological data from 5-month-old grafts. Tree Physiol. 19:645-654.
4. Gulen, H., R. Arora, A. Kuden, S. Krepbs and J. Postman. 2002. Peroxidase isozyme profiles in compatible and in-compatible pear-quince graft combinations. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127:152-157.
5. Gulen, H., M. Celik and A. Eris. 2005. Cambial Isoperoxidases related to graft compatibility in pear-quince graft combinations. Turkish J. Agr. Forest. 29:83-89.
6. Gulen, H., A. Kuden, J. Postman and R. Arora. 2005. Total protein content and SDS-PAGE in pear scions grafted on Quince A and pear seedling rootstocks. Turkish. J. Agr. Forest. 29:91-96.
7. Harkin, J.M. and J.R. Obst. 1973. Lignification in trees: Indication of exclusive peroxidase participation. Science 180:296-298.
8. Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies and R.L. Geneve. 1997. Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall, New Jersey, U.S.A. 392-436.
9. Herrero, J. 1951. Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees. J. Hort. Sci. 26:86-237.
10. Mendel, K. and A. Cohen. 1967. Starch level in the trunk as measure of compatible between stock and scion in citrus. J. Hort. Sci. 42:331-334.
11. Moing, A. and B. Gaudillere. 1992. Carbon and nitrogen partitioning in peach/plum grafts. Tree Physiol. 10:81-92.
12. Moore, R. 1983. Physiological aspects of graft formation. In: R. Moore (ed.), Vegetative Compatibility Responses in Plants. Baylor Univ. Press. 89-105.
13. Mosse, B. 1962. Graft-incompatibility in Fruit Trees. Tech. Comn. No. 28, Comm. Bur. of Hort. and Plantation Crops, East Maling, England. 130 p.
14. Rem, R.C. and F.K. Robert. 1996. Rootstocks for Fruit Trees. 326 p.
15. Santamour, F.S. Jr. 1988. Graft compatibility in woody plants: an expanded perspective. J. Environ. Hort. 6:27-32.
16. Santamour, F.C., A.J. Mcardle and R.A. Jaynes. 1986. Cambial isoperoxidase patterns in *Castanea*. J. Environ. Hort. 5:14-16.
17. Schmid, P.P.S. and W. Feucht. 1985. Compatibility in *Prunus avium*/*Prunus cerasus* grafting during the initial phase. III. Isoelectrofocusing of proteins, peroxidases and acid phosphatases during union formation. J. Hort. Sci. 60:311-318.

18. Wendel, J.F. and N.F. Weeden. 1989. Visualation and interpretation of plant isozymes. In: D.E. Soltis and P.S. Soltis (eds.). *Isozymes in Plant Biology*, Dioscordes Press. Portland, OR. U.S. A. 5-44.
19. Yeoman, M.M., D.C. Kilpatrick, M.B. Miedzybrodzka and A.R. Gould. 1978. Cellular interaction during graft formation in plants, a recognition phenomenon? *Symp. Soc. Exp. Biol.* XXXII, 139-160.
20. Zapata, C., E. Deleens, S. Chailou, and C. Magne. 2004. Partitation and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *J. Plant Physiol.* 161:1031-1040.