تعیین کیفیت و کمیت دانه‌گرده در برخی از ژنوتیپ‌های ذغال‌اخته (*Cornus mas* L)

حمید حسن‌پور* و فاطمه میرزایی

ارومیه ، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۷

چکیده

دانه‌های‌گرده ۱۰ ژنوتیب ذغال‌اخته (*cornus mas* L.) از منطقه ارسباران آذربایجان‌شرقی در ایران برای تعیین قوه نامیه، میزان جوانه‌زنی، سطح تولید دانه‌گرده و هم‌شکلی مورفولوژیکی مورد آزمایش قرار گرفتند. قوه نامیه دانه‌های گرده از طریق آزمون‌های تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) و یدید پتاسیم یدین (IKI) تعیین می‌گردد. آزمون‌های جوانه‌زنی دانه‌گرده با استفاده از روش قطره‌های آویزان (Hanging Drop) در محلول‌های ساکارز ۰، ۵، ۱۰، ۱۵ و۲۰٪ و اسید بوریک ۰/۰۳، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲٪ انجام شد. تولید دانه‌گرده و هم‌شکلی مورفولوژیکی نیز بوسیله روش هموسایتومتریک (Haemacytometric) تعیین گردید. نتایج نشان داد که در آزمون TTC بالاترین درصد دانه‌های گرده زنده در ژنوتیپ C10 (۶۴/۳٪) و پایین‌ترین آن در C9 (۵۲/۲ ٪) بود. همچنین در آزمون IKI بالاترین دانه گرده زنده در ژنوتیپ C5 (۸۷/۲ ٪) و پایین‌ترین آن در ژنوتیپ C8 (۷۴/۲٪) بود. بالاترین میزان جوانه‌زنی دانه گرده در محلول‌های ساکارز ۱۵ و ۲۰٪ و اسید بوریک ۰/۰۳٪ بود. حداکثر سطح تولید دانه گرده نرمال از ژنوتیپ C3 بدست آمد. سطح هم‌شکلی مورفولوژیکی دانه‌های‌گرده در رنجی از ۹۰/۵ تا ۹۶/۷٪ بود.

واژه‌های کلیدی: آزمون رنگ‌آمیزی، دانه‌گرده، ذغال‌اخته، منطقه ارسباران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۴۳۶۷۴۴۵۶ ، پست الکترونیکی: phhassanpour@gmail.com

مقدمه

ذغال‌اخته یکی از محصولات باغی کشور است که مانند دیگر محصولات باغبانی دارای مزیت‌های متفاوت از قبیل ارزش غذایی و دارویی است. به دلیل شرایط اقلیمی مناسب در بعضی از مناطق کشور، ذغال‌اخته عمدتا به صورت ارگانیک تولید می‌شود، از این‌رو می‌تواند برای صادرات و سودآوری مورد توجه قرارگیرد. چنانچه از مطالعات برمی‌آید در بعضی از نواحی کشورمان مانند ارسباران در استان‌های آذربایجان شرقی، قزوین و گیلان شرایط لازم برای تولید این محصول با ارزش وجود دارد (۱۸).

بطور کلی هدف از پرورش درختان میوه، افزایش باردهی با کیفیت ویژه و کمیت زیاد می‌باشد که در ذغال‌اخته نیز چنین اهدافی دنبال می‌گردد. برای رسیدن به این مهم، درک مشکلات بیولوژیکی و تکنیکی در باروری بسیار مهم است. متأسفانه اطلاعات در زمینه بیولوژی باروری ذغال-اخته در ایران بسیار محدود است. قوه نامیه و میزان جوانه-زنی در رابطه با کیفیت دانه‌گرده از خصوصیات بسیار مهم در درختان میوه است. این ویژگی‌ها برای اصلاح‌کنندگان و پرورش‌دهندگان درختان میوه بسیار مفید است. میزان باروری و تشکیل میوه پایین ارتباط نزدیکی با خصوصیات متفاوت دانه‌گرده دارد (کمیت و میزان جوانه‌زنی). شناسایی روابط بین باروری و این خصوصیات برای رشد میوه خیلی مهم است (۲۳). مطالعه دانه‌گرده می‌تواند اطلاعات با ارزشی را فراهم کند (۳۰). محققان زیادی نشان دادند که خصوصیات ساختاری دانه‌گرده در تعداد زیادی از گونه‌ها و مورفولوژی دانه‌گرده شامل اندازه، شکل و الگوی آن

ممکن است برای شناسایی گونه‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۵، ۲۳ و ۲۴). مورفولوژی دانه گرده وابسته به ژنتیک گیاه می‌باشد که درک تفاوتهای موجود در بین ژنوتیپ‌ها بحرانی می‌باشد (۳۰).

اخیرا به تأثیر ویژه کیفیت گرده تأکید زیادی می‌شود، همچنین گزارش شده است که کیفیت پایین گرده می‌تواند علت اصلی ناتوانی زایشی در بعضی جمعیت‌های طبیعی گیاهان باشد (۴). کارایی دانه‌گرده (از قبیل دانه‌گرده تولید شده در گل، هم‌شکلی مورفولوژیکی دانه‌گرده، جوانه‌زنی دانه‌گرده، رشد لوله گرده و ترکیب دانه‌گرده) از اجزاء مهم موفقیت در باروری درختان میوه می‌باشند (۷ و ۳۴). بنابراین میزان باروری پایین و تشکیل میوه پایین ارتباط نزدیکی با خصوصیات متفاوت دانه‌گرده (کمیت، میزان جوانه‌زنی و هم‌شکلی مورفولوژیکی) دارد (۱۲ و ۱۵). در نتیجه شناسایی روابط بین باروری و این خصوصیات برای پرورش میوه بسیار مهم است (۳۴). برای بررسی پتانسیل گرده‌افشانی، باید کمیت و قوه نامیه دانه‌گرده و همچنین توانایی جوانه‌زنی دانه گرده مورد بررسی قرار گیرد. یک رابطه خطی بین قوه نامیه و توانایی جوانه‌زنی در تعداد زیادی از گونه‌ها وجود دارد. توانایی جوانه‌زنی دانه گرده به فاکتورهای مختلفی از قبیل شرایط تغذیه‌ای، گونه، واریته و یا ژنوتیپ استفاده شده و فاکتورهای محیطی دارد (۱۴). همچنین مقدار تولید دانه‌گرده در گونه‌های گیاهی به عوامل زیادی از قبیل گونه، ارقام، سن گیاه، شرایط تغذیه-ای و محیط کشت بستگی دارد (۱۴). بنابراین علاوه بر خصوصیات ژنتیکی، فاکتورهای محیطی از قبیل شرایط اقلیمی و خاکی نیز در تولید گرده و کیفیت میوه مؤثر هستند. همچنین مطالعات روی تولید و خصوصیات گرده بعضی از درختان از قبیل بادام، به و زردآلو نشان داد که خصوصیات گرده بوسیله شرایط ژنتیکی و محیطی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۶، ۸، ۱۱ و ۲۹).

مطالعات متعددی نشان داده است که آزمون‌های تری فنیل ترازولیوم کلراید (TTC) و یدید پتاسیم یدین (IKI) برای تخمین قوه نامیه دانه گرده بسیار مناسب هستند. همچنین این روش‌ها ساده و سریع هستند (۳ و ۱۹). Abdelgadir و همکاران (۳) مشاهده کردند که این روش‌ها توانایی تشخیص دانه‌گرده زنده از غیر زنده را دارند، بنابراین می-توانند برای ارزیابی دانه گرده ذغال‌اخته نیز مؤثر واقع شوند.

همچنین در مطالعات مختلف مشخص شده است که دانه-های‌گرده در محیط‌های ویژه دارای رشد و جوانه‌زنی مطلوب هستند (۲۶ و ۳۵). از اجزای اصلی یک محیط کشت دانه‌گرده می‌توان به اسید بوریک و ساکارز اشاره کرد. بطور کلی ساکارز نقش منبع انرژی و مواد اسموتیک را در محیط کشت ایفا می‌کند (۲۸) و در میان عناصر مختلف، نقش عنصر برای گسترش لوله گرده ضروری است و می‌تواند در کمپلکس‌های قند-برات شرکت کند. علاوه بر آن این عنصر برای تشکیل دیواره سلولی لوله گرده در حال رشد نیز مهم می‌باشد (۳۵). بنابراین استفاده از این عنصر برای جوانه‌زنی دانه‌گرده یک استراتژی مؤثر در تولید میوه است. مطالعات مختلف نشان داده است که استفاده از غلظت‌های مختلف بر در تشکیل میوه اهمیت زیادی دارد، به‌طوری‌که ممکن است در درختان مختلف استفاده از غلظت‌های بالاتر منجر به کاهش تشکیل میوه گردد (۲۶). در درختان سیب رقم گلدن و استار بهترین جوانه‌زنی در ۰/۲ مولار ساکارز و ۲۰ میکروگرم بر میلی-لیتر اسید بوریک بدست آمد. مشخص شده است که استفاده از غلظت مناسب بر و ساکارز می‌تواند جوانه‌زنی و رشد لوله گرده را تشویق کند (۱۰).

با انجام مطالعات تحت شرایط باغ می‌توان به وضعیت باروری گونه‌های مختلف درختی پی برد. از این رو عملکرد واقعی میوه می‌تواند تحت تأثیر شرایط و سازگاری‌های اکولوژی محلی تعیین گردد. با وجود این،

مطالعات روی جوانه‌زنی دانه گرده و قوه نامیه تحت شرایط آزمایشگاهی، می‌تواند اطلاعات با ارزشی درباره گونه‌های درختان میوه بدهد. متأسفانه، مطالعه در مورد بیولوژی دانه‌گرده، قوه نامیه، جوانه‌زنی و تولید دانه‌گرده درختان ذغال اخته در ایران انجام نشده است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی قوه نامیه، کمیت و کیفیت دانه-گرده و جوانه‌زنی آن در ژنوتیپ‌های مختلف ذغال‌اخته در استان آذربایجان شرقی (منطقه ارسباران) می‌باشد.

مواد و روشها

ده ژنوتیپ ذغال‌اخته (C1، C2، C3، C4، C5، C6، C7، C8، C9 و C10) از منطقه ارسباران استان آذربایجان شرقی برای انجام این آزمایش انتخاب شدند. موقعیت جغرافیایی و محل جمع‌آوری نمونه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- موقعیت جغرافیایی و محل جمع‌آوری نمونه‌های مورد مطالعه ذغال‌اخته

نمونه	محل جمع‌آوری نمونه	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)
C1	کلیبر	۳۸° ۵۲´۳۴۰″	۴۷° ۰۲´۸۶۵″	۱۰۵۹
C2	کلیبر	۳۸° ۵۱´۶۵۶″	۴۷° ۰۱´۶۷۳″	۱۲۵۹
C3	کلیبر	۳۸° ۴۹´۲۷۵″	۴۷° ۰۳´۴۹۱″	۱۲۲۶
C4	کلیبر	۳۸° ۵۱´۱۶۵″	۴۷° ۰۴´۱۸۹″	۱۲۱۰
C5	کلیبر	۳۸° ۵۵´۱۲۴″	۴۷° ۰۱´۵۹۵″	۱۰۲۵
C6	هوراند	۳۸° ۴۹´۰۳۹″	۴۷° ۲۱´۵۷۰″	۱۰۳۴
C7	هوراند	۳۸° ۴۹´۶۸۴″	۴۷° ۲۳´۹۶۴″	۸۶۵
C8	هوراند	۳۸° ۴۵´۹۲۸″	۴۷° ۲۱´۳۳۶″	۱۱۸۷
C9	هوراند	۳۸° ۵۰´۰۶۳″	۴۷° ۲۲´۰۴۶″	۱۰۸۷
C10	هوراند	۳۸° ۴۸´۴۲۱″	۴۷° ۲۴´۰۲۵″	۱۱۶۲

گل‌ها در مرحله غنچه جمع‌آوری گردیده و بساک‌های آنها در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت ذخیره شدند. نمونه گل برای آزمون سنجش قوه نامیه، تولید و جوانه‌زنی دانه‌گرده در اواسط مدت گل‌دهی ذغال‌اخته تهیه می‌شود. میزان قوه نامیه دانه‌گرده با استفاده از آزمون TTC و IKI (۲۵) تعیین می‌گردد. در آزمون TTC از محلول ۲ و۳و۵- تری فنیل تترازولیوم کلراید استفاده می‌شود. یک قطره از این محلول روی لامی که دانه‌گرده در آن قرار دارد، ریخته شد. سپس به وسیله برس روی لام پخش شد. شمارش کردن بعد از کاربرد TTC انجام و در سه گروه براساس شدت رنگ‌آمیزی تقسیم شدند. دانه‌های‌گرده‌ای با رنگ قرمز تیره، زنده بوده و قوه نامیه بالایی داشتند. دانه-های‌گرده با رنگ قرمز روشن نیمه زنده بوده و قوه نامیه متوسطی داشتند و بالاخره دانه‌های‌گرده رنگ نگرفته، مرده بوده و هیچ قوه نامیه‌ای نخواهند داشت (۹). همچنین قوه نامیه دانه‌های‌گرده در محیط IKI بعد از ۲ دقیقه شمارش و تعیین می‌شوند. دانه‌های‌گرده قهوه‌ای تیره به عنوان دانه-گرده زنده، دانه‌های‌گرده مایل به زرد به عنوان نیمه زنده و رنگ نگرفته‌ها غیر زنده محسوب می‌شوند. برای تعیین قوه نامیه حدودا ۳۰۰ دانه‌گرده از هر تکرار و از چهار ناحیه متفاوت زیر میکروسکوپ نوری شمارش می‌شوند. توانایی جوانه‌زنی بوسیله روش قطره‌های آویزان (Hanging drop) در محلولهای ساکارز ۰، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ ٪ و اسید بوریک ۰/۰۳، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲٪ تعیین می‌گردد. دانه‌های گرده در دمای ۲۲ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی نگهداری می‌شوند.

برای هر منبع دانه‌گرده ۶ لام و پتری دیش در نظر گرفته شد که هریک از اینها به عنوان یک تکرار در نظر گرفته

می‌شوند. در آزمون‌های جوانه‌زنی ۱۰۰ دانه گرده از هر تکرار بطور تصادفی شمارش شده و همه مشاهدات در لام‌ها و پتری دیش‌ها در درشت نمایی ۱۰۰ X با استفاده از میکروسکوپ نوری انجام می‌شود. مقدار تولید دانه‌گرده در هر بساک و هر گل و میزان هم‌شکلی مورفولوژیکی دانه-های‌گرده با استفاده از روش هموسایتومتریک (Haemocytometric) تعیین می‌گردند (۹). ابتدا داده‌های بدست آمده مورد آزمون نرمالیته قرار گرفتند و آن داده-هایی که از توزیع نرمال انحراف داشتند از Arc Sin جهت تبدیل داده‌ها استفاده کردند. بعد از بررسی نرمال بودن داده‌ها، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمون‌های TTC و IKI برای قوه نامیه دانه‌های‌گرده در جدول ۲ نشان داده شده است. در آزمون TTC میزان قوه نامیه دانه‌گرده تفاوت معنی‌داری نشان داد. در آزمون TTC بالاترین درصد دانه‌های‌گرده زنده در ژنوتیپ C10 (۶۴/۳٪) و پایین‌ترین آن در C9 (۵۲/۲٪) مشاهده گردید. درصد دانه‌های‌گرده نیمه زنده بین ۱۵/۴٪ (C8) و ۱۹/۲٪ (C4) متغیر بود. پایین‌ترین درصد دانه‌های گرده غیر زنده در ژنوتیپ C5 (۱۴/۳٪) و بالاترین آن در ژنوتیپ C3 (۲۵/۴٪) بود.

جدول ۲- میزان قوه نامیه دانه‌گرده تعیین شده در ژنوتیپ‌های مختلف ذغال‌اخته با آزمون‌های IKI وTTC

ژنوتیپ	TTC			IKI	
	زنده (٪)	نیمه زنده (٪)	مرده (٪)	زنده (٪)	مرده (٪)
C1	۶۳/۶±۲/۳^{ab}	۱۸/۱±۱/۱^{ab}	۱۵/۲±۱/۸^{c}	۸۲/۴±۱/۶^{ab}	۱۵/۴±۱^{bc}
C2	۵۴/۱±۳/۲^{bc}	۱۹±۱/۳^{a}	۲۱/۳±۱/۳^{b}	۸۱/۲±۳/۶^{ab}	۱۵/۶±۱/۱^{bc}
C3	۵۲/۶±۱/۸^{c}	۱۶/۳±۱/۲^{bc}	۲۵/۴±۱/۲^{a}	۷۵/۱±۲/۲^{c}	۲۵/۱±۱/۷^{a}
C4	۵۳/۱±۳/۴^{c}	۱۹/۲±۱/۳^{a}	۲۵/۱±۱/۴^{a}	۷۶/۱±۳/۵^{bc}	۲۰/۸±۱/۶^{b}
C5	۶۴/۱±۲^{a}	۱۶/۳±۲^{bc}	۱۴/۳±۱/۳^{c}	۸۷/۲±۴/۱^{a}	۱۲±۱/۳^{c}
C6	۶۱/۹±۲^{ab}	۱۷/۴±۱^{b}	۱۵/۵±۱/۹^{c}	۸۱/۵±۱/۳^{ab}	۱۴/۳±۱/۴^{bc}
C7	۵۵/۳±۲/۲^{b}	۱۷/۸±۱/۱^{b}	۲۰/۱±۱/۲^{b}	۸۰/۳±۳/۵^{ab}	۱۴/۲±۱/۲^{bc}
C8	۵۶/۴±۱/۵^{b}	۱۵/۴±۱/۶^{c}	۲۴/۳±۱/۱^{a}	۷۴/۲±۲/۶^{c}	۲۴/۴±۱/۳^{a}
C9	۵۲/۲±۳/۳^{c}	۱۸/۱±۱/۷^{ab}	۲۴/۱±۱/۳^{a}	۷۸/۴±۳/۳^{bc}	۲۱/۳±۱/۴^{b}
C10	۶۴/۳±۱^{a}	۱۷/۶±۳/۱^{b}	۱۵/۲±۱/۱^{c}	۸۳/۱±۳/۱^{ab}	۱۱/۵±۱/۱^{c}

در هر ستون داده‌هایی که با حروف مشابه نشان داده شده است در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. برای هر تیمار ۶ تکرار استفاده شده است.

به طور کلی میزان قوه نامیه بدست آمده بوسیله آزمون IKI نزدیک به آزمون TTC بود. تفاوت‌های معنی‌دار آماری در میان درصدهای مشاهده شده از دانه‌های‌گرده زنده و غیر زنده در آزمون IKI وجود داشت. در آزمون IKI بالاترین دانه‌گرده زنده در ژنوتیپ C5 (۸۷/۲٪) و پایین‌ترین آن نیز در ژنوتیپ C8 (۷۴/۲٪) بود (جدول ۲).

انتخاب روش درست برای تعیین قوه نامیه دانه‌گرده برای کارهای اصلاحی در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف درختان میوه اهمیت زیادی دارد. تغییرات در کیفیت دانه‌گرده بین ارقام یک گونه درختان میوه کاملا عمومی است (۳۱). آزمون‌های استاندارد برای تعیین قوه نامیه شامل جوانه‌زنی دانه‌گرده در محیط درون شیشه‌ای و درون آزمایشگاهی و تخمین مستقیم قوه نامیه در دانه‌های‌گرده جوانه نزده با

استفاده از آزمون‌های شیمیایی متنوع انجام می‌شود (۳۲). تعداد زیادی از آزمون‌های رنگ‌آمیزی از قبیل استو کارمین، پروپیون کارمین، آنیلون بلو، رنگ آمیزی الکساندر، IKI، FDA (فلوریسین دی استات)، DTB (۲ و ۵ دی فینیل تترازولیوم بروماید) و TTC برای تعیین قوه نامیه دانه‌گرده درختان میوه و گیاهان دیگر استفاده شده است (۹، ۱۷، ۲۱ و ۲۷). آزمون‌های رنگ‌آمیزی، بعنوان نشانگرهای قوه نامیه دانه‌گرده مزایای زیادی دارند، برای اینکه آنها سریع‌تر و آسان‌تر از آزمون‌های جوانه‌زنی دانه‌گرده می‌باشند.

روش مناسب رنگ‌آمیزی برای ارقام و گونه‌های مختلف درختان میوه متفاوت می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که آزمون‌های رنگ‌آمیزی TTC و IKI می‌تواند بطور موفقیت آمیز در ذغال‌اخته که تا کنون هیچ مطالعه‌ای قبلا برای آزمون قوه نامیه این گیاه گزارش نشده است، استفاده شود. تفاوت در میان ژنوتیپ‌ها از لحاظ آزمون‌های رنگ آمیزی در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده است (۳۲ و ۳۳).

کیفیت دانه‌گرده براساس قوه نامیه و قدرت رشدی دانه‌گرده ارزیابی می‌گردد. قدرت رشدی دانه‌گرده به سرعت جوانه‌زنی دانه‌گرده و میزان رشد لوله گرده برمی‌گردد. آزمون جوانه‌زنی دانه گرده برای تعیین درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده استفاده می‌شود و همچنین می‌تواند برای ارزیابی قدرت رشدی دانه‌گرده نیز بکار رود (۱ و ۳۲). در برنامه‌های اصلاحی درختان میوه استفاده از روش مناسب برای تعیین قوه نامیه دانه‌گرده خیلی مهم است. آزمون جوانه‌زنی برای تعیین مقدار واقعی قوه نامیه دانه‌گرده ضروری به نظر می‌رسد.

درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده درختان ذغال‌اخته در جدول ۳ و ۴ آمده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که تأثیر غلظت ساکارز و اسید بوریک روی جوانه‌زنی دانه گرده بطور آماری معنی‌دار بود. افزایش غلظت ساکارز میزان جوانه‌زنی را تا سطح ۲۰-۱۵٪ افزایش داد و بعد از آن نقطه کاهش مشاهده شد. بالاترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده در غلظت ۱۵٪ و ۲۰٪ ساکارز در ژنوتیپ C1 مشاهده گردید.

جدول ۳- درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در روش قطره‌های آویزان در غلظت‌های مختلف ساکارز در ژنوتیپ‌های ذغال‌اخته

ژنوتیپ	غلظت (٪)					
	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵
C1	۱۲/۸±۰/۹^{d}	۲۰/۶±۱/۴^{c}	۲۷/۵±۰/۷^{b}	۴۰/۸±۳/۲^{a}	۴۱/۱±۳/۳^{a}	۳۲/۸±۳/۴^{b}
C2	۱۰/۴±۰/۸^{b}	۱۸/۵±۱/۵^{ab}	۳۰/۹±۲/۲^{a}	۳۸/۲±۱/۸^{a}	۲۸±۲/۵^{a}	۱۶/۶±۱/۳^{ab}
C3	۱۳/۱±۱/۸^{c}	۱۵/۲±۰/۹^{bc}	۲۲/۱±۱/۲^{b}	۲۹/۸±۲/۴^{ba}	۳۷/۱±۲/۴^{a}	۲۱/۳±۱/۲^{b}
C4	۱۰/۶±۱^{c}	۱۶/۳±۰/۸^{b}	۲۲/۲±۱/۶^{ab}	۳۳/۳±۲/۶^{a}	۳۵/۵±۲/۳^{a}	۲۱/۷±۲/۳^{b}
C5	۱۷/۵±۰/۹^{c}	۲۲/۸۷±۱/۶^{b}	۳۰/۱±۲/۴^{ab}	۳۸/۲±۳/۴^{a}	۳۰/۴±۲/۵^{ab}	۳۱/۱±۱/۲^{ab}
C6	۱۳/۲±۰/۷^{d}	۲۱/۳±۲/۴^{c}	۲۶/۳±۰/۵^{b}	۳۹/۶±۲/۲^{a}	۴۰±۲/۳^{a}	۳۱/۴±۳/۲^{b}
C7	۱۱/۷±۰/۹^{b}	۱۹/۴±۱/۴^{ab}	۳۱/۸±۲^{a}	۳۷/۳±۱/۷^{a}	۲۶/۱±۲/۳^{a}	۱۵/۹±۱/۲^{ab}
C8	۱۴/۵±۱/۵^{c}	۱۶/۱±۰/۷^{bc}	۲۱/۲±۲/۲^{b}	۲۸/۷±۲/۳^{bc}	۳۸/۶±۱/۴^{a}	۲۲/۱±۱/۱^{b}
C9	۱۱/۵±۱/۲^{c}	۱۷/۴±۱/۸^{b}	۲۱/۴±۱/۳^{ab}	۳۴/۸±۲/۳^{a}	۳۶/۷±۲/۱^{a}	۲۰/۹±۲/۲^{b}
C10	۱۶/۴±۰/۸^{c}	۲۱/۹±۱/۴^{b}	۳۰/۲±۲/۱^{ab}	۳۷/۲±۲/۳^{a}	۲۹/۴±۳/۳^{ab}	۳۰/۱±۱/۱^{ab}

در هر ردیف داده‌هایی که با حروف مشابه نشان داده شده است در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. برای هر تیمار ۶ تکرار استفاده شده است.

پایین‌ترین درصد جوانه‌زنی در همه نمونه‌ها در شاهد مشاهده شد. مشخص شده است که ساکارز با غلظت‌های ۱۵ و ۲۰٪، مناسب ترین محیط کشت برای جوانه‌زنی دانه گرده تحت شرایط درون شیشه‌ای در بعضی درختان میوه

هسته‌دار می‌باشد (۲۷ و ۳۶). همچنین مطالعات پیری و همکاران (۲) نشان داد که بیشترین جوانه زنی دانه‌های گرده توت فرنگی در محیط کشت حاوی ۱۵ درصد ساکارز انجام می‌شود.

در غلظت‌های مناسب ساکارز، تعادل بین فشار اسمزی خارجی و داخلی دانه‌گرده ایجاد می‌گردد و بدین وسیله قوه نامیه نرمال گرده نیز حفظ می‌شود. بنابراین غلظت مناسب ساکارز برای جوانه‌زنی دانه گرده مهم است (۲۲). شواهدی وجود دارد که ساکارز موجود در محیط کشت بوسیله دانه‌گرده در حال جوانه‌زنی متابولیزه می‌شود. در گونه‌های مختلف گیاهی غلظت ساکارز متفاوت می‌باشد (۵ – ۳۰٪) (۲۸).

مطالعات Kamyab و همکاران (۲۰) نیز نشان داد که درصد جوانه‌زنی دانه گرده در محیط کشت حاوی اسید بوریک بطور قابل توجهی نسبت به محیط کشت فاقد اسید بوریک بالاتر بود. اغلب تحقیقات استفاده از محیط کشت حاوی ساکارز را پیشنهاد می‌کنند اما اسید بوریک، کلسیم، اسید جیبرلیک و غیره نیز در مواردی بعنوان محیط کشت استفاده شده‌اند (۲۰). البته غلظت ساکارز هم در درصد جوانه‌زنی اثرگذار بوده است.

بالاترین میزان جوانه‌زنی در روش قطره‌های آویزان (Hanging Drop) در پایین‌ترین غلظت اسید بوریک (۰/۰۳٪) به جز برای ژنوتیپ‌های C2 و C7 مشاهده شد. در بیشتر ژنوتیپ‌ها میزان جوانه‌زنی با افزایش غلظت اسید بوریک کاهش می‌یابد (جدول ۴). بالاترین جوانه‌زنی دانه-گرده ۲۴/۳٪ بود که در ژنوتیپ C5 مشاهده شد. پایین‌ترین جوانه‌زنی دانه گرده نیز در غلظت ۰/۲٪ اسید بوریک و در ژنوتیپ C1 مشاهده شد (۷٪). این نتایج با مطالعات دیگر در این زمینه مطابقت دارد (۱۱ و ۱۲). Ferrari and Wallace (۱۶) مشاهده کردند زمانی که غلظت اسید بوریک در نوعی براسیکا (*Brassica oleracea* var capitata) بالاتر از ۰/۰۸٪ باشد، میزان جوانه‌زنی دانه گرده کاهش می‌یابد.

جدول ۴- درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در روش قطره‌های آویزان در غلظت‌های مختلف اسید بوریک در ژنوتیپ‌های ذغال‌اخته

ژنوتیپ	غلظت (٪)				
	۰/۰۳	۰/۰۵	۰/۱	۰/۲	P
C1	۱۶/۸±۱/۴^{a}	۱۴/۲±۰/۸^{ab}	۱۱/۱±۱/۵^{b}	۷±۰/۹^{c}	**
C2	۱۹/۵±۱/۳^{a}	۲۰/۸±۱/۴^{a}	۱۴/۲±۱^{b}	۱۲/۱±۰/۹^{b}	*
C3	۱۵/۱±۱/۴	۱۰±۰/۹	۱۰/۱±۰/۸	۷/۹±۱/۴	ns
C4	۲۱/۶±۱/۷^{a}	۱۸/۴±۱/۶^{ab}	۱۶/۸±۱/۵^{ab}	۱۱/۱±۰/۹^{b}	*
C5	۲۴/۳±۲/۳^{a}	۱۹/۹±۲/۴^{ab}	۱۸/۱±۱/۵^{ab}	۱۲/۸±۱/۲^{b}	**
C6	۱۵/۷±۱/۲^{a}	۱۳/۶±۱/۲^{ab}	۱۲±۱/۳^{b}	۸±۰/۷^{c}	**
C7	۲۰/۳±۱/۳^{a}	۲۱/۱±۱/۲^{a}	۱۳/۱±۱/۱^{b}	۱۱/۱±۰/۸^{b}	*
C8	۱۴±۱/۶	۱۱±۱/۳	۱۱/۳±۰/۹	۸/۴±۱/۳	ns
C9	۲۰/۵±۱/۶^{a}	۱۷/۱±۱/۳^{ab}	۱۵/۲±۱/۳^{ab}	۱۰±۰/۸^{b}	*
C10	۲۳/۲±۲/۲^{a}	۱۷/۸±۲/۶^{ab}	۱۶/۳±۱/۴^{ab}	۱۱/۵±۱/۱^{b}	**

در هر ردیف داده‌هایی که با حروف مشابه نشان داده شده است در سطح ۱ و یا ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. ns ، * و **: بـه‌ترتیـب نشان‌دهنده غیر معنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و معنی‌دار بودن در سطح ۱٪ است.

همچنین مشخص شده است که اگر عنصر بر با غلظت مناسب بکار برده شود، نقش مهمی در جوانه‌زنی دانه‌گرده دارد ولی اگر با غلظت نامناسب استفاده شود، می‌تواند اثرات متفاوت و گاهی بازدارنده به دلیل ایجاد سمیت در

محیط کشت بروز دهد که این حالت در جوانه‌زنی دانه-گرده گونه‌ها و ارقام مختلف مشاهده شده است (۳۵). جوانه‌زنی کمتر و محدود دانه‌گرده در بعضی غلظت‌ها ممکن است به علت آنتاگونیسمی جذب مواد غذایی توسط دانه‌گرده نیز باشد (۳۵).

جوانه‌زنی دانه‌گرده در حالت درون شیشه‌ای بوسیله عواملی مانند گونه گیاهی که گرده از آن جمع‌آوری شده است، زمان جمع‌آوری دانه‌گرده، فصل جمع‌آوری، نوع روش جمع‌آوری و شرایط انبارداری تحت تأثیر قرار می-گیرد (۷). علاوه بر عوامل فوق، جوانه‌زنی دانه‌گرده در شرایط درون شیشه‌ای تحت تأثیر تراکمی از دانه‌گرده‌ای که پاشیده می‌شود، ترکیب محیط کشت جوانه‌زنی و pH نیز قرار می‌گیرد (۱۵).

میانگین تعداد بساک در ژنوتیپ‌های بررسی شده ذغال-اخته بین ۳/۷۶ و ۳/۹۶ بود. البته هیچ تفاوت معنی‌دار آماری در تعداد دانه‌گرده وجود نداشت. بالاترین تعداد دانه‌گرده ۱۲۹۰۰ و پایین‌ترین آن ۷۱۱۹ بود. در حالیکه تفاوت معنی‌داری در تعداد دانه‌گرده در یک بساک در بین ژنوتیپ‌های مختلف ذغال اخته وجود داشت. بالاترین تعداد دانه‌گرده در بساک در ژنوتیپ C9 (۳۴۷۶) و پایین-ترین آن در ژنوتیپ C2 (۱۵۶۷) بود.

ویژگی‌هایی از قبیل نمو سالم دانه‌گرده و توانایی و قدرت جوانه‌زنی در باروری بسیار مهم می‌باشند. خصوصیات فوق بعنوان معیار کیفیت دانه‌گرده نامیده می‌شوند. همچنین کمیت دانه‌گرده در گلها باید بالا باشد (۱۱). علاوه بر مقدار تولید دانه‌گرده در گلها، میزان تولید دانه‌های‌گرده نرمال از لحاظ مورفولوژیکی نیز حائز اهمیت است (۱۳).

بالاترین هم‌شکلی دانه‌گرده در ژنوتیپ C4 (۹۶/۴٪) و پایین‌ترین آن در ژنوتیپ C9 (۹۱/۲٪) بود. بطور کلی هم-شکلی مورفولوژیکی در ژنوتیپ‌های ذغال‌اخته‌های بررسی شده بالا بود (جدول ۵).

جدول ۵- تولید دانه‌گرده و هم‌شکلی مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های ذغال‌اخته

ژنوتیپ	تعداد بساک در گل	تعداد دانه‌گرده در گل	تعداد دانه‌گرده در بساک	تعداد دانه‌گرده نرمال	هم‌شکلی مورفولوژیکی (٪)
C1	۳/۸۵	۹۴۹۸	۲۲۳۸[ab]	۹۵/۱±۲/۲	۹۱/۳
C2	۳/۹۶	۷۱۱۹	۱۵۶۷[b]	۹۱/۲±۱/۷	۹۳/۲[b]
C3	۳/۹۱	۹۰۹۳	۲۵۴۳[ab]	۹۴/۶±۳	۹۰/۵[c]
C4	۳/۹۰	۱۲۹۰۰	۳۳۲۳[a]	۹۰/۲±۳/۳	۹۶/۷[a]
C5	۳/۹۳	۱۱۷۶۵	۲۴۵۳[ab]	۹۱/۱±۲/۸	۹۵/۵[a]
C6	۳/۷۶	۹۵۸۸	۲۳۶۵[ab]	۹۴±۲/۱	۹۴/۳[b]
C7	۳/۸۷	۷۲۶۵	۱۶۸۹[b]	۹۲/۴±۱/۵	۹۲[c]
C8	۳/۸۲	۹۱۸۷	۲۶۵۴[ab]	۹۳/۶±۳/۱	۹۳/۴[b]
C9	۳/۸۵	۱۱۹۲۳	۳۴۷۶[a]	۹۱/۱±۳/۴	۹۱/۲[c]
C10	۳/۹۱	۱۲۷۴۵	۲۵۴۳[ab]	۹۳±۲/۴	۹۳/۴[b]
P	ns	ns	*	ns	**

در هر ستون داده‌هایی که با حروف مشابه نشان داده شده است در سطح ۱ و یا ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. ns، * و **: به‌ترتیب نشان‌دهنده غیر معنی‌دار، معنی‌دار بودن در سطح ۵٪ و معنی‌دار بودن در سطح ۱٪ است.

Dane و همکاران (۱۲) گزارش کردند که هم‌شکلی مورفولوژیکی در ارقام و گونه‌های درختان میوه بین ۱۰۰-۵۱/۸٪ بود. بالاترین هم‌شکلی مورفولوژیکی می‌تواند به عنوان یک ویژگی خوب در بیولوژی باروری ارزیابی گردد. Dalkilic and Mestav (۱۱) نیز گزارش کردند که بین نسبت جوانه‌زنی دانه‌گرده و ساختار مورفولوژیکی

دانه‌گرده و میزان جوانه‌زنی دانه‌گرده روابطی وجود دارد. در دانه‌های گرده‌ای که هم‌شکلی مورفولوژیکی ندارند، میزان جوانه‌زنی دانه‌گرده پایین می‌باشد. بطور کلی ژنوتیپ‌های استفاده شده در این مطالعه نشان دادند که تعداد گرده، قوه نامیه و میزان جوانه‌زنی در محیط‌های کشت مختلف متفاوت می‌باشد. این نتایج برای ارزیابی ژرم پلاسم ذغال اخته مفید هستند و خصوصیات دانه‌گرده آنها می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

۱- پیری، س.، ایمانی، ع.، معصومی، ح.، بدرزاده، د. (۱۳۹۲). بهینه-سازی محیط کشت دانه گرده توت فرنگی و ارزیابی جوانه‌زنی آن پس از نگهداری در دماهای مختلف. مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران). ۲۶(۲): ۱۷۶-۱۸۳.

۲- دانشمند، ف.، منوچهری کلانتری، خ. (۱۳۸۸). اثر تنش گرما بر جوانه‌زنی و رشد دانه گرده در گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.) در شرایط درون شیشه‌ای. مجله زیست شناسی ایران. ۲۲(۴): ۶۳۶-۶۴۴.

3- Abdelgadir, H. A., Johnson, S. D., and Van Staden, J. (2012). Pollen viability, pollen germination and pollen tube growth in the biofuel seed crop *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). South African Journal of Botany 79: 132-139.

4- Amat, M. E., Vargas, P., and Gomez, J. M. (2011). Pollen quality limitation in the Iberian critically endangered genus *Pseudomisopates* (Antirrhinaceae). Plant Ecology 212: 1069 – 1078.

5- Arzani, K., Nejatian, M. A., and karimzadeh, G. (2005). Apricot (*Prunus armeniaca*) pollen morphological characterization through scanning electron microscopy, using multivariate analysis. New Zealand Journal of Crop Horticultural Science 33: 381-388.

6- Asma, B. M. (2008). Determination of pollen viability, germination ratios and morphology of eight apricot genotypes. African Journal of Biotechnology 7: 4269-4273.

7- Atasaya, A., Akgul, H., Ucgan, K. and San, B. (2013). Nitrogen fertilization affected the pollen production and quality in apple cultivars Jerseymac and Golden Delicious. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil and Plant Science 63(5): 460-465.

8- Bayazit, S., Imrak, B., and Caliskan, O. (2012). Determination of pollen production and quality attributes of some almond cultivars (*Prunus dulcis*) and selected wild almond (*Amygdalus orientalis*) genotypes. International Journal of Agriculture and Biology 14: 425-429.

9- Bolat, I., and Pirlak, L. (1999). An investigation on pollen viability, germination and tube growth in some stone fruits. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 23: 383-388.

10- Calzoni, G.L., Speranza, A., and Bagni, N. (1979). In vitro germination of apple pollens. Scientia Horticulturae 10(1): 49-55.

11- Dalkilic, Z., and Mestav, H. O. (2011). In vitro pollen quality, viability and germination tests in quince. African Journal of Biotechnology 10: 16516-16520.

12-. Dane, F., Olgun G., and Dalgic, D. (2004). In vitro pollen germination of some plant species in basic culture medium. Journal of Cell and Molecular Biology 3: 71-76.

13- Derin, K., and Eti, S. (2001). Determination of pollen quality, quantity and effect of cross-pollination on the fruit set and quantity in the pomegranate. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 25: 169-173.

14- Ercisli, E. (2007). Determination of pollen viability and invitro pollen germination of *Rosa Dumalis* and *Rosa Villosa*. Bangladesh Journal of Botany 36(2): 185-187.

15- Erdoghan, U. (2015). Determination of pollen quality and quantity in Mulberry (*Morus alba* L.). Pakistan journal botany 47(1): 275-278.

16- Ferrari, T. E., and Wallace, D. N. (1975). Germination of *Brassica* pollen and expression incompatibility *in vitro*. Euphytica 24: 757-765.

17- Garcia, J. E., Egea, J., Egez, L., and Berenguer, T. (1990). The floral biologie of certain apricot cultivars in Murcia. Horticultural Abstract 60: 9607.

18- Hassanpour, H., Hamidoghli, Y., Samizadeh, H. (2013). Estimation of genetic diversity in some Iranian Cornelian cherries (*Cornus mas* L.) accessions using ISSR markers. Biochemical Systematic and Ecology 48: 257-262.

19- Huang, Z., Zhu, J., Mu, X., and Lin, J. (2004). Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chInensis*. Annals of Botany 93: 295-301.

20- Kamyab, F., Vezvayi, A., Ebadi, A., and Panahi, B. (2007). The floering time, pollen quantitative and qualitative of some picticia genotypes (*Pisticia vera* L.) in Rafsanjan. Journal of science and technology of agriculture and natural science 41: 131-139.

21- Lee, C. W., Thomas, J. C., and Buchmann, S. L. (1985). Factors affecting in vitro pollen germination and storage of jojoba pollen. Journal of the American Society for Horticultural Science 110: 671-676.

22- Liu, L., Huang, L., and Li, Y. (2013). Influence of Boric Acid and Sucrose on the Germination and Growth of *Areca* Pollen. American Journal of Plant Sciences 4: 1669-1674.

23- Mert, C. (2010). Anther and pollen morphology and anatomy in walnut (*Juglans regia* L.). Horticultural Science 45 (5): 757-760

24- Mert, C., Soylu A. (2007). Morphology and anatomy of pollen grains from male-fertile and male-sterile cultivars of chestnut (*Castanea sativa* Mill). The Journal of Horticultural Science Biotechnology 82: 474-480.

25- Norton, J.D. (1966). Testing of plum pollen viability with Tetrazolium salts. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 89: 132-134.

26- Nyomora, A. M. S., Brown, P. H., Krueger, B. (1999). Rate and time of boron application increase almond productivity and tissue boron concentration. HortScience 34, 242–245.

27- Parfitt, D. E., and Ganeshan, S. (1989). Comparison of procedures for estimating viability of *Prunus* pollen. Horticultural Science. 19: 69-70.

28- Patel, R. G., and Mankad, A. U. (2014). In Vitro Pollen Germination - A Review. International Journal of Science and Research 3(5): 304-307.

29- Pipattanawong, R., Yamane, K., Fujishige, N., Bang, S. W., Yamaki, Y. (2009). Effects of high temperatureon pollen quality, ovule fertilization and development of embryo and achene in Tochiotome strawberry. Journal of Japanese Society for Horticultural Science 78: 300-206.

30- Soliman, S. S., and Obeed, R. S. (2013). Investigations on the pollen morphology of some date palm males (*phoenix dactylifera* L.) in Saudi Arabia. Australian journal of crop science 7(9): 1355-1360.

31- Stosser, R., hartmann W., and S.f. Anvari, S. f. (1996). General aspects of pollination and fertilization of pome and stone fruit. Acta Horticulturae 423: 15-22.

32- Sulusoglu, M., and Cavusoglu, A. (2014). In Vitro Pollen Viability and Pollen germination in Cherry Laurel (*Prunus laurocerasus* L.). The Scientific World Journal 1-7.

33- Tosun, F., and Koyuncu, F. (2007). Investigations of suitable pollinator for 0900 ziraat sweet cherry cv. pollen performance tests, germination tests, germination procedures, in vitro and in vivo pollinations. Horticultural Science 34: 47–53.

34- Thompson, M. (2004). Flowering, pollination and fruit set. In: Cherries, Crop Physiology, Production and Uses. (Eds.): Webster, A.D., N.E. Looney, Wallingford, CABI Publishing 223-243.

35- Wang, Q. L., Lu, L. D., Wu, X. Q., Li, Y. Q., and Lin, J. X. (2003). Boron influences pollen germination and pollen tube growth in *Picea meyeri*. Tree Physiology 23: 345–351.

36- Werner, D. J., and Chang, S. (1981). Stain testing viability in stored peach pollen. Horticultural Science 16: 522-523.

Determination of Pollen Quality and Quantity in some Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes

Hamid Hassanpour*[1] and Fatemeh Mirzaei[2]

Horticulture Dept., Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran

Abstract

The pollen grains of ten Cornelian cherry (*cornus mas* L.) genotypes were tested for the determination of viability, germination rate, pollen production level and morphological homogeneity in Arasbaran district of East Azerbaijan, Iran. The viability of the pollen was determined by Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) and Iodine-potassium iodide (IKI) tests. Pollen germination tests were carried out by Hanging Drop method in sucrose solutions of 0, 5, 10, 15, 20 and 25% and in 0.03, 0.05, 0.1 and 0.2% of boric acid. Also, pollen production and morphological homogeneity were determined by Hemacytometric method. The results showed that, in the TTC test, the highest percentage of viable pollen grain was found in C10 genotype (64.3%) and the lowest was found in C9 genotype (52.2%). Also, in the IKI test, the highest viable pollen was found in C5 genotype (87.2%) and the lowest in C8 genotype (74.2%). The Pollen germination rates were the highest in 15 and 20 % of sucrose and 0.03% of boric acid solutions. The maximum pollen production level was obtained from the C3 genotype. The morphological homogeneity level of pollens ranged from 96.7 to 90.5%.

Key words: Arasbaran region, Cornelian cherry, Pollen, Staining test