

## ارزیابی درصد میوه‌بندی و وضعیت سازگاری گرده‌افشانی در ارقام مختلف زردآلو

محمد زرین‌بال<sup>۱</sup>، بهرام باغبان‌کهنه‌روز<sup>۲</sup>، علی سلیمانی<sup>۳\*</sup>، جلیل دژم‌پور<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۷/۵/۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۹

- ۱- دانشجوی دکتری اصلاح و فیزیولوژی درختان میوه، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
  - ۲- دانشیار گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
  - ۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
  - ۴- دانشیار بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، تبریز، ایران
- \* مسئول مکاتبه: Email: asoleimani@znu.ac.ir

### چکیده

خود ناسازگاری در درختان زردآلو (*Prunus armeniaca* L.) و نیاز به گرده‌افشانی با سایر ارقام به ناپایداری در عملکرد درخت و عدم دستیابی به محصول تجاری منجر می‌شود. اطمینان از نتیجه گرده‌افشانی و تولید محصول پایدار در ارقام جدید نیازمند مطالعه سازگاری دانه‌گرده بین ارقام مختلف می‌باشد. در این تحقیق، درصد میوه‌بندی نهایی ژنوتیپ‌های امیدبخش زردآلو پس از گرده‌افشانی کنترل شده در شرایط مزرعه‌ای طی دو سال متوالی مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین سازگاری آنها با استفاده از ردیابی لوله‌گرده درون مادگی به کمک میکروسکوپ فلئورسنت ارزیابی گردید. وجود حداقل یک لوله‌گرده در حال رشد درون تخمدان ۹۶ ساعت پس از گرده‌افشانی نشانه سازگاری و توقف رشد لوله‌گرده درون خامه نشانه ناسازگاری ژنوتیپ‌های گرده‌زا و گرده‌گیرنده منظور شد. بر اساس نتایج این تحقیق، ژنوتیپ‌های گرده‌زای Aybatan، GER، HB190، NM177 و KOSH269 با ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده از سازگاری دانه‌گرده برخوردار بودند. با این حال، بیشترین درصد میوه‌بندی نهایی در رقم Ordoubad90 با استفاده از دانه‌گرده ژنوتیپ‌های NM177 و Aybatan، بیشترین درصد میوه‌بندی نهایی در ژنوتیپ‌های ASG و AD503 با استفاده از دانه‌گرده ژنوتیپ‌های Aybatan و GER و نهایتاً بیشترین درصد میوه‌بندی نهایی در ژنوتیپ AD740 با استفاده از دانه‌گرده ژنوتیپ‌های NM177، Aybatan و GER به دست آمد. در میان ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده، ژنوتیپ AD503 دارای پتانسیل باروری بیشتر (۴۷٪ میوه‌بندی) و رقم Ordoubad90 دارای پتانسیل باروری کمتری (۲۳٪ میوه‌بندی) بودند. همچنین، مشاهدات میکروسکوپی نتایج حاصل از ارزیابی میوه‌بندی نهایی پس از گرده‌افشانی کنترل شده در باغ را تایید نمود.

واژه‌های کلیدی: تولید پایدار، رشد لوله‌گرده، زردآلو، سازگاری دانه‌گرده، میوه‌بندی نهایی

## Assessment of Fruit Set Percentage and Pollen Compatibility Status in Different Apricot Cultivars

Mohammad Zarrinbal<sup>1</sup>, Bahram Baghban Kohnehrouz<sup>2</sup>, Ali Soleimani<sup>3\*</sup>, Jalil Dejampour<sup>4</sup>

Received: July 24, 2018 Accepted: October 31, 2018

1- PhD Student of Improvement and Physiology of Fruit Trees, Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

2- Assoc. Prof., Dept. of Plant Breeding & Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

3- Assoc. Prof., Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

4- Assoc. Prof., Dept. of Crops and Horticulture, Agricultural and Natural Resources Research and Educational Center of East Azerbaijan, AREEO, Tabriz, Iran.

\*Corresponding Author Email: asoleimani@znu.ac.ir

### Abstract

Self-incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.) trees and their need for pollination with other cultivars results in unsustainable yield and loss of traditional production. Study of pollen compatibility among different cultivars is needed to guarantee of fertility outcome and sustainable fruit production in new apricot cultivars. In current work, the final fruit set was studied for apricot promising genotypes after controlled cross-pollination in the field conditions in two successive years. Also, their (in) compatibility status was evaluated by tracking of pollen tube growth through the ovary by fluorescent microscopy approach. The presence of at least one growing pollen tube inside the ovary 96 h after pollination was considered as the sign of compatibility, but block of pollen tube growth through the style was considered as the sign of incompatibility between pollinizer and recipient genotypes. According to our data, all of pollinizers include of GER, Aybatan, HB190, NM177 and KOSH269 were compatible with recipient genotypes. However, the most percentage of final fruit set in Ordoubad90 was achieved when it was pollinated with NM177 and Aybatan pollinizers, in ASG and AD503 genotypes were achieved when they were pollinated with Aybatan and GER pollinizers, and finally in AD740 genotype was achieved when it was pollinated with NM177, Aybatan and GER pollinizers. Additionally, AD503 had more (47% fruit set) but Ordoubad90 had less (23% fruit set) fertility potential among recipient genotypes. Also, microscopic observations confirmed the results of final fruit set following controlled cross-pollination in the field.

**Keywords:** Apricot, Final Fruit Set, Pollen Compatibility, Pollen Tube Growth, Sustainable Production

## مقدمه

دانش کافی از روابط سازگاری دانه‌گرده- مادگی بین ارقام مختلف از جنبه‌های بسیار مهم در فرآیند باردهی درختان میوه است که نه تنها از دیدگاه میوه‌کاری در گزینش مناسب درختان گرده‌زا بمنظور پایداری تولید در باغ اهمیت ویژه‌ای دارد، بلکه از نظر افزایش کارایی و سرعت برنامه‌های به‌نژادی نیز از جایگاه مهمی برخوردار می‌باشد (دژم‌پور و همکاران ۲۰۱۱). امروزه در معرفی ارقام جدید ابتدا وضعیت خود (نا)سازگاری<sup>۱</sup> و دگر (نا)سازگاری<sup>۲</sup> پایه‌های مادری و پدری تعیین می‌شود تا با انتخاب والدین مناسب و گرده‌افشانی موفق، تولید محصول تجاری امکانپذیر گردد. ویژگی خود ناسازگاری یک ابزار تکاملی در گیاهان گلدار می‌باشد که به منظور اجتناب از خود باروری<sup>۳</sup> و تشویق دگر باروری<sup>۴</sup> گسترش یافته است. در این پدیده ممانعت از خود باروری با استفاده از مکانیزم شناسایی دانه‌گرده- مادگی صورت می‌گیرد و نتیجه آن منع انتخابی رشد لوله‌گرده‌ای است که توسط مادگی به‌عنوان خودی<sup>۵</sup> شناخته شده است. در این حالت هر دو اندام جنسی نر و ماده کارآمد بوده ولی گیاه توانایی باروری و تشکیل بذر پس از خودگرده‌افشانی را ندارد (دنتانکورت ۲۰۰۱؛ هالاسز و همکاران ۲۰۰۷).

زردآلو (*Prunus armeniaca* L.) که گمان می‌رود بومی چین باشد، در مسیر جاده ابریشم و از طریق آسیای میانه تا اروپا پراکنش یافته است (فاست و همکاران ۱۹۹۸؛ هو و همکاران ۲۰۱۸). زردآلوهای اروپایی عموماً با ویژگی خود سازگاری شناخته شده‌اند (بورگوس و همکاران ۱۹۹۷) ولی زردآلوهای ایرانی که به گروه ایرانی- قفقازی تعلق دارند، همانند زردآلوهای آسیایی درجه بالایی از خود ناسازگاری را نشان می‌دهند (ژبنتیایووا و همکاران ۲۰۱۲). خود ناسازگاری

در زردآلو همانند سایر گونه‌های جنس پرونوس<sup>۶</sup> از نوع گامتوفیتی است که توسط یک مکان ژنی با آللهای مختلف کنترل می‌شود (آلبورکوکوف و همکاران ۲۰۰۲). در این نوع ناسازگاری چنانچه در دانه‌گرده و مادگی آللهای مشابهی وجود داشته باشند، رشد لوله‌گرده متوقف می‌شود (بورگوس و همکاران ۱۹۹۸). محصول ژن خود ناسازگاری در خامه پروتئین-S RNase می‌باشد که فعالیت ریبونوکلازی دارد (ویلانوا و همکاران ۲۰۰۶)، در حالیکه در دانه‌گرده محصول این ژن بعنوان پروتئین F-box شناخته می‌شود (انتانی و همکاران ۲۰۰۳). ناتوانی رشد لوله‌گرده درون خامه با برهمکنش این دو ژن در ارتباط است.

مکان ژنی ناسازگاری<sup>۷</sup> هر دو پدیده خود ناسازگاری و دگر ناسازگاری را در درختان میوه کنترل می‌کند (ایشیمیزو و همکاران ۱۹۹۹؛ سانزول ۲۰۰۹). در واقع این مکان ژنی که مسئول کنترل خود ناسازگاری است، دگر ناسازگاری را نیز کنترل می‌کند (دنتانکورت ۲۰۰۱). ارقامی که دارای آللهای خود ناسازگاری مشابه هستند، تشکیل یک گروه دگر ناسازگاری می‌دهند که توانایی گرده‌افشانی و باروری یکدیگر را ندارند (ویلانوا و همکاران ۲۰۰۵). این ارقام برای تولید میوه تجاری به گرده‌افشانی با دانه‌گرده مناسب و سازگار نیاز دارند. گزارشات متعددی از دگر ناسازگاری ارقام در درختان میوه هسته‌دار وجود دارد (سانزول و هررو ۲۰۰۲؛ رومرو و همکاران ۲۰۰۴). ممکن است علت افزایش این پدیده استفاده از ارقام محدود بعنوان والد پدری و مادری در برنامه‌های اصلاحی باشد که پایه ژنتیکی ارقام را محدود می‌کند (ایشیمیزو و همکاران ۱۹۹۹). وجود گروه‌های دگر ناسازگار در زردآلو توسط محققین مختلف گزارش شده است (اگه و همکاران ۱۹۹۱؛ حاجیلو و همکاران

<sup>5</sup> Self<sup>6</sup> *Prunus*<sup>7</sup> S-locus<sup>1</sup> Self-(in)compatibility<sup>2</sup> Cross-(in)compatibility<sup>3</sup> Self-fertilization<sup>4</sup> Cross-fertilization

مقایسه با روش‌های مولکولی مبتنی بر پی سی آر<sup>۶</sup> که در سال‌های اخیر گسترش یافته‌اند، بسیار مقرون به صرفه است (میلاتوویک و همکاران ۲۰۱۳ ب). ویژگی دیگر (نا)سازگاری بین ارقام با استفاده از این روش در گیلاس (سونولد و همکاران ۲۰۰۳؛ رسولی و همکاران ۲۰۱۰)، بادام (اورتگا و همکاران ۲۰۰۲؛ آلونسو و سوسیاس آی کمپانی ۲۰۰۵)، آلو (نیکولیک و میلاتوویک ۲۰۱۰) و زردآلو (میلاتوویک و نیکولیک ۲۰۰۷؛ مولایی و همکاران ۲۰۱۴) مورد مطالعه قرار گرفته است.

هدف از انجام این پژوهش تعیین دگر (نا)سازگاری و انتخاب بهترین والد گرده‌زا در برخی از ژنوتیپ‌های امیدبخش زردآلو با استفاده از ارزیابی میوه‌بندی نهایی پس از تلاقی‌های کنترل شده در شرایط باغی و همچنین ردیابی میکروسکوپی لوله‌گرده درون مادگی پس از تلاقی‌های کنترل شده در شرایط آزمایشگاهی بود.

#### مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی:** چهار ژنوتیپ زردآلو به عنوان والد گرده-گیرنده و پنج ژنوتیپ به عنوان والد گرده‌زا از میان ژنوتیپ‌های امید بخش حاصل از برنامه به‌نژادی زردآلو (دژمپور و همکاران ۲۰۱۱) مورد مطالعه قرار گرفتند. گرده‌افشانی آزاد والد‌های گرده‌گیرنده بعنوان شاهد در نظر گرفته شد. این ژنوتیپ‌ها روی پایه بذری قرار داشته و در ایستگاه تحقیقات باغبانی وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی کشت شده‌اند. درختان ۷-۹ ساله بوده و عملیات باغی یکسانی بر روی آنها انجام گردید. منشاء، شجره و ویژگی مهم این ارقام و ژنوتیپ‌ها در جدول یک آورده شده است. این مطالعه در دو سال متوالی ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ انجام شد.

(۲۰۰۶ ب). برای اولین بار آگه و همکاران (۱۹۹۱) دگر ناسازگاری بین دو رقم زردآلوی اسپانیایی<sup>۱</sup> 'مونیکو فینو'<sup>۱</sup> و 'مونیکو بوردا'<sup>۲</sup> را گزارش کردند. پس از آن آگه و برگوس (۱۹۹۶) به این نتیجه رسیدند که ارقام زردآلوی 'هارگرد'<sup>۳</sup>، 'گلدریچ'<sup>۴</sup> و 'لامبرتین وان'<sup>۵</sup> با یکدیگر دگر ناسازگاری دارند.

در برنامه‌های به‌نژادی کلاسیک تعیین ویژگی دگر (نا)سازگاری با استفاده از ارزیابی میوه‌بندی پس از تلاقی‌های کنترل شده در شرایط مزرعه‌ای صورت می‌گیرد. در این روش برآورد عملکرد درخت و مقایسه بین ارقام گرده‌دهنده در شرایط واقعی باغ امکان‌پذیر بوده و از این نظر به روش‌های آزمایشگاهی برتری دارد (اورتگا و دیسنتا ۲۰۰۶). از آنجائیکه میزان تشکیل میوه به دلیل ویژگی‌های فیزیولوژیکی درخت و شرایط محیطی در طی سال‌های مختلف در نوسان می‌باشد، لذا تکرار گرده‌افشانی برای حداقل دو سال متوالی توصیه می‌شود (میلاتوویک و همکاران ۲۰۱۳ ب).

ردیابی میکروسکوپی رشد لوله‌گرده درون خامه با استفاده از میکروسکوپ مجهز به نور فلئورسنت روش دیگری برای تعیین دگر (نا)سازگاری بین ارقام می‌باشد. در این روش زمانی که در اکثر مادگی‌های در حال بررسی حداقل یک لوله‌گرده به تخمدان برسد، بعنوان تلاقی سازگار طبقه‌بندی می‌شود و زمانی که رشد لوله‌گرده درون خامه متوقف شده و تشکیل کالوز انتهایی مشاهده شود، به عنوان تلاقی ناسازگار تلقی خواهد شد (اورتگا و دیسنتا ۲۰۰۳، ۲۰۰۶). از آنجایی که این روش کمتر تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد، در مقایسه با مطالعه میوه‌بندی پس از دگر گرده‌افشانی در شرایط مزرعه‌ای، ارزیابی دقیق‌تری را امکان‌پذیر می‌سازد (جکوا مارت ۲۰۰۷) و همچنین در

<sup>4</sup> Goldrich

<sup>5</sup> Lambertin-1

<sup>6</sup> Polymerase Chain Reaction (PCR)

<sup>1</sup> Moniqui fino

<sup>2</sup> Moniqui Borde

<sup>3</sup> Hargrand

جدول ۱- اسامی، شجره، منشاء و ویژگی مهم ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده و گرده‌زای مورد مطالعه زردآلو

ردیف	ژنوتیپ	شجره	منشاء	ویژگی
۱	Ordoubad 90	رقم ایرانی	ایران	خشکباری
۲	ASG	ژنوتیپ بومی آذربایجان	ایران	خشکباری
۳	AD 503	آبیاتان × نصیری ۹۰	ایران	خشکباری
۴	AD 740	مراغه‌ای ۹۰ × کانینو	ایران	تازه خوری
۱	GER	رقم ایرانی	ایران	تازه خوری
۲	Aybatan	رقم ایرانی	ایران	تازه خوری
۳	HB 190	ژنوتیپ بومی آذربایجان	ایران	خشکباری
۴	NM 177	ژنوتیپ بومی آذربایجان	ایران	تازه خوری
۵	KOSH 269	ژنوتیپ بومی آذربایجان	ایران	تازه خوری
۶				
	گرده‌افشانی آزاد			شاهد

بصورت یکنواخت توزیع شده بودند (حاجیلو و همکاران ۲۰۰۶ الف)

دگر گرده‌افشانی کنترل شده در باغ: برای انجام دگر گرده‌افشانی کنترل شده در باغ، از هر درخت گرده‌گیرنده سه شاخه در جهت‌های مختلف که دارای موقعیت نسبی، تعداد گل و سطح برگ تقریباً مشابهی بودند از قسمت میانی تاج درخت انتخاب شدند. این شاخه‌ها در مرحله غنچه بسته انتخاب و با استفاده از پنس گلبرگ‌ها و پرچم‌ها حذف شدند تا گل‌ها اخته شوند (جکوا و مارت ۲۰۰۷؛ قره شیخ بیات ۲۰۱۰). همچنین گل‌های باز شده و گل‌هایی که قبل از مرحله غنچه بسته بودند، حذف شدند. سپس این شاخه‌ها با استفاده از کیسه‌های پارچه‌ای از جنس ململ ایزوله شدند تا از گرده افشانی ناخواسته جلوگیری شود. در زمان باز شدن گل‌ها و زمانی که کلاله گل آمادگی پذیرش دانه گرده را داشت، دگر گرده‌افشانی مصنوعی با استفاده از گرده مورد نظر توسط قلم مو انجام شد. برای اجتناب از آلودگی برای هر تیمار یک قلم موی جداگانه انتخاب شد و نیز دست‌ها با الکل ۷۰٪ ضدعفونی می‌شدند. این شاخه‌ها مجدداً با کیسه‌های ململ پوشانیده شده تا از آلودگی گل‌ها توسط دانه گرده بیگانه جلوگیری شود.

**تعیین درصد جوانه‌زنی دانه گرده:** به منظور تعیین درصد جوانه‌زنی دانه گرده، شاخه‌های دارای جوانه گل از درختان گرده‌زا در مرحله D فلکینگر<sup>۱</sup> (غنچه بسته) انتخاب و درون کیسه‌های پلاستیکی سربسته به آزمایشگاه منتقل شده و در سطل‌های ۲۰ لیتری حاوی آب قرار گرفتند تا گل‌ها باز شوند. بساک‌ها پیش از باز شدن گل با استفاده از پنس جدا شده و گرده‌ها پس از جمع‌آوری در یخچال نگهداری شدند (اگه و بورگوس ۱۹۹۶؛ بورگوس و همکاران ۲۰۰۴). سپس گرده‌ها درون پتری دیش روی محیط کشت حاوی ۱٪ آگار، ۱۵٪ ساکارز و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید بوریک کشت شده و در اتاقک کشت و در شرایط کنترل شده از نظر دما (۲۲±۲) درجه سانتی‌گراد، نور (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) و رطوبت نسبی (۷۵٪) قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت درصد تندش دانه گرده با استفاده از میکروسکوپ نوری در چهار میدان دید مختلف بررسی گردید (اگه و همکاران ۱۹۹۱؛ رومرو و همکاران ۲۰۰۴). برای جلوگیری از اثر توده‌ای<sup>۲</sup> (تحریک تندش و رشد لوله گرده زمانی که تعداد دانه گرده در واحد سطح زیاد باشد) شمارش دانه‌های گرده جوانه زده از میان میدان‌های دیدی صورت گرفت که دانه‌های گرده

<sup>2</sup> Mass effect

<sup>1</sup> Flekinger

هارتمن و همکاران (۲۰۱۴). نمونه‌ها سه مرتبه و هر بار به مدت یک ساعت با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۲ ساعت در محلول NaOH چهار مولار قرار داده شدند تا بافت آنها نرم شود. پس از شستشوی مجدد در آب مقطر، نمونه‌ها جهت رنگ‌آمیزی به مدت ۴۸ ساعت در محلول آنیلین بلو ۱٪ و فسفات دی هیدروژن پتاسیم ۰/۱ نرمال در دمای آزمایشگاه و در تاریکی قرار گرفتند. پس از شستشوی مجدد با استفاده از آب مقطر، هر مادگی بصورت جداگانه روی لام قرار داده شده و جهت شفافیت بهتر تصویر، یک قطره گلیسرین روی آن ریخته شد و توسط لامل به آرامی له گردید. در نهایت با استفاده از میکروسکوپ مجهز به نور فلورسنت (Olympus-CX31, GD-100) روند رشد لوله‌گرده درون خامه و رسیدن آن به تخمدان مورد مطالعه قرار گرفت (میلاتویک و همکاران ۲۰۱۳ الف). برای هر تلاقی هفت مادگی مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت و تعداد دانه‌گرده روی کلاله، تعداد لوله‌گرده نفوذ کرده در یک چهارم بالایی خامه، یک دوم میانی خامه، سه چهارم بخش پایینی خامه و درون تخمدان شمارش شدند (نیکولیک و میلاتویک ۲۰۱۰؛ میلاتویک و همکاران ۲۰۱۳ ب).

**تجزیه داده‌ها:** به منظور تعیین درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده از طرح کاملاً تصادفی با ۹ تیمار در سه تکرار و چهار میدان دید میکروسکوپی در هر تکرار که بطور تصادفی از هر نمونه انتخاب شدند، استفاده گردید. برای تجزیه و تحلیل درصد میوه‌بندی پس از دگرگرده‌افشانی کنترل شده در باغ، از طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۴ تیمار در ۳ تکرار استفاده شد. هر تکرار شامل یک درخت بوده و در هر درخت سه شاخه در جهت‌های مختلف از قسمت میانی تاج درخت و در کل دارای تعداد تقریباً ۳۰۰ گل انتخاب شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها از

گرده‌افشانی مصنوعی پس از ۴۸ ساعت تکرار شد تا از تلاقی گل‌ها اطمینان حاصل شود (جکوا و مارت ۲۰۰۷). با سپری شدن دو هفته کیسه‌ها برداشته شدند. پس از گذشت دو هفته از انجام گرده‌افشانی میزان میوه‌بندی اولیه و پس از هشت هفته میزان میوه‌بندی نهایی با شمارش تعداد میوه‌های تشکیل شده و محاسبه نسبت آنها به تعداد گل‌های تلقیح شده به دست آمد (اگه و بورگوس ۱۹۹۶؛ قره شیخ بیات ۲۰۱۰). همچنین به منظور تعیین پتانسیل باروری ارقام مادری، گرده‌افشانی آزاد گل‌ها در شرایط طبیعی در باغ انجام شد و میزان میوه‌بندی اولیه و نهایی با شمارش تعداد میوه‌های تشکیل شده و محاسبه نسبت آنها به تعداد گل‌های تلقیح شده به دست آمد (فوتیریک آکسیک و همکاران ۲۰۱۴). برای اطمینان از نتایج به دست آمده، این مطالعه در دو سال تکرار گردید.

**دگرگرده‌افشانی کنترل شده در آزمایشگاه و ردیابی لوله‌گرده درون مادگی:** جهت اطمینان از نتایج مطالعات باغی، مطالعات آزمایشگاهی و میکروسکوپی دگر(نا)سازگاری برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه انجام گردید. بدین منظور، شاخه‌های دارای تعداد کافی جوانه گل (حدود ۴۰ گل) از درختان گرده‌گیرنده در مرحله بالونی<sup>۱</sup> برداشت شده و به آزمایشگاه با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. انتهای شاخه‌ها درون سطل‌های ۲۰ لیتری محتوی محلول ۵٪ ساکارز قرار گرفتند. پس از باز شدن گل‌ها و پذیرا بودن کلاله، گل‌ها با استفاده از گرده‌والد پدري به کمک قلم مو تلقیح شدند. با گذشت ۹۶ ساعت از گرده‌افشانی، مادگی گل‌ها جدا شده و درون محلول تثبیت کننده FAA<sup>۲</sup> (حاوی ۹۰ درصد اتانول ۷۰ درصد، ۵ درصد فرم آلدئید ۴۰ درصد و ۵ درصد اسید استیک گلاسیال) به مدت ۲۴ ساعت تثبیت شده و سپس تا زمان انجام بررسی‌های میکروسکوپی در اتانول ۷۰ درصد و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند (رومرو و همکاران ۲۰۰۴؛

<sup>2</sup> Formaldehyde Acetic Acid (FAA)

<sup>1</sup> Balloon stage

بیشترین و ژنوتیپ NM177 کمترین درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده را به خود اختصاص دادند (شکل ۲). هرچند که بین ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف از نظر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ولی همه آنها از درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده قابل قبولی برخوردار بودند.

**دگر گرده‌افشانی کنترل شده در باغ: ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده مورد مطالعه پس از تلاقی با ژنوتیپ‌های گرده‌زا از نظر درصد تشکیل میوه اولیه و نهایی در سطح احتمال ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان دادند. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل ژنوتیپ‌های گرده‌زا و گرده‌گیرنده برای درصد تشکیل میوه اولیه و نهایی در جدول ۲ آورده شده است. در سال ۱۳۹۴ ژنوتیپ Ordoubad90 با گرده ژنوتیپ NM بیشترین و ژنوتیپ AD740 با گرده ژنوتیپ HB کمترین درصد تشکیل میوه اولیه را داشتند. در همین سال ژنوتیپ AD503 با گرده ژنوتیپ GER بیشترین و ژنوتیپ Ordoubad90 با گرده ژنوتیپ HB کمترین درصد تشکیل میوه نهایی را دارا بودند (جدول ۲). در سال ۱۳۹۵، ژنوتیپ AD740 به دنبال گرده‌افشانی آزاد بیشترین و ژنوتیپ Ordoubad90 با گرده ژنوتیپ HB کمترین درصد تشکیل میوه اولیه را دارا بودند. از طرف دیگر ژنوتیپ AD740 با گرده ژنوتیپ GER بیشترین و ژنوتیپ Ordoubad90 با گرده ژنوتیپ HB کمترین درصد تشکیل میوه نهایی را دارا بودند (جدول ۲).**

نرم‌افزارهای SPSS ver. 20 و MSTATC استفاده شد. برای دگر گرده‌افشانی کنترل شده در آزمایشگاه و ردیابی میکروسکوپی لوله‌گرده درون مادگی، تعداد دانه‌گرده روی کلاله و تعداد لوله‌گرده در یک چهارم بالایی خامه، یک دوم میانی خامه، سه چهارم پایینی خامه و نیز درون تخمدان شمارش شدند. در بررسی‌های میکروسکوپی وجود حداقل یک لوله‌گرده نفوذ کرده به درون مادگی تلاقی سازگار و توقف رشد لوله‌گرده در طول خامه و چند شاخه‌ای شدن آن تلاقی ناسازگار منظور گردید.

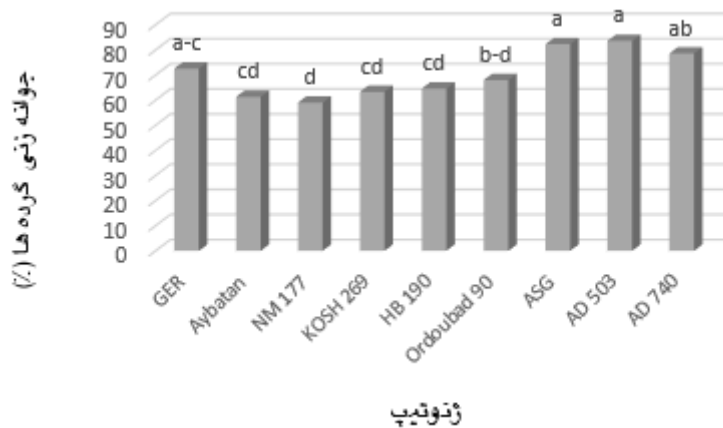
### نتایج

**همپوشانی دوره گلدهی:** مطالعه زمان گلدهی در دو سال متوالی نشان داد که گلدهی ژنوتیپ‌های گرده‌زا با ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده به مدت پنج روز همزمان بودند. ژنوتیپ‌های AYB و KOSH نسبت به سایر ژنوتیپ‌های گرده‌زا و گرده‌گیرنده مورد مطالعه اندکی زودگل‌تر بوده ولی در هر دو سال مورد بررسی از همپوشانی زمان گلدهی کافی با ارقام مادری برخوردار بودند. شروع و پایان گلدهی در دو سال مورد بررسی به دلیل تغییر در شرایط آب و هوایی متفاوت بوده ولی الگوی گلدهی این ژنوتیپ‌ها ثابت بود (شکل ۱).

**درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده:** درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در کشت درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه زردآلو از ۸۲-۵۹٪ متفاوت بود. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که ژنوتیپ AD503

زمان گلدهی سال ۱۳۹۴ (فروردین ماه ۱۳۹۴)																									
ژنوتیپ	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲	۲	۲	۲
										۰	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۰	۱	۲	۳	۴	۵
GER																									
AYB																									
NM																									
KOSH																									
H																									
HB																									
ORD																									
ASG																									
AD50																									
3																									
AD74																									
0																									
زمان گلدهی سال ۱۳۹۵ (اسفند ۱۳۹۴)																									
ژنوتیپ	۶	۷	۸	۹	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۳
GER																									
AYB																									
NM																									
KOSH																									
H																									
HB																									
ORD																									
ASG																									
AD50																									
3																									
AD74																									
0																									

شکل ۱- همپوشانی زمان گلدهی ژنوتیپ‌های گرده‌زا و گرده‌گیرنده زردآلو در دو سال متوالی



شکل ۲- درصد جوانه‌زنی دانه گرده ژنوتیپ‌های مورد مطالعه زردآلو در شرایط درون شیشه‌ای حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ توسط آزمون دانکن می‌باشد.



جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر منابع مختلف دانه‌گرده بر درصد تشکیل میوه اولیه و نهایی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه زردآلو

وضعیت سازگاری	سال ۱۳۹۵		سال ۱۳۹۴		گرده‌زا	گرده‌گیرنده
	میوه‌بندی نهایی %	میوه‌بندی اولیه %	میوه‌بندی نهایی %	میوه‌بندی اولیه %		
سازگار	۱۷/۶۷±۴/۵۰ e-h	۳۷/۰۰±۳/۰۱ a-d	۳۹/۳۳±۴/۰۴ a-f	۶۹/۶۷±۵/۰۳ ab*	GER	
سازگار	۱۷/۳۳±۴/۰۴ e-i	۳۷/۶۷±۲/۰۸ a-d	۴۱/۶۷±۲/۵۱ a-d	۶۲/۰۰±۱/۰۰ b-g	Aybatan	
سازگار	۲۲/۰۰±۴/۳۵ a-e	۴۱/۰۰±۴/۳۵ ab	۴۵/۶۷±۴/۰۴ ab	۷۳/۰۰±۴/۰۱ a	177 NM	Ordoubad90
سازگار	۱۳/۳۳±۳/۵۱ h-j	۳۱/۰۰±۳/۶۰ d-g	۲۹/۳۳±۳/۵۱ h-k	۶۳/۶۷±۳/۲۱ a-f	KOSH 269	
نسبتاً سازگار	۸/۰۰±۱/۷۳ k	۲۲/۳۳±۳/۰۵ h	۲۳/۳۳±۵/۵۱ k	۵۸/۶۷±۴/۵۰ c-h	190 HB	
سازگار	۱۱/۳۳±۴/۰۴ jk	۲۵/۳۳±۴/۰۴ f-h	۲۵/۳۳±۴/۰۴ i-k	۵۱/۶۷±۴/۷۲ h-j	Open Pollination	
سازگار	۲۳/۳۳±۲/۰۸ a-c	۳۹/۶۷±۳/۷۸ a-c	۴۳/۰۰±۶/۰۱ a-c	۶۴/۶۷±۴/۵۱ a-e	GER	
سازگار	۲۲/۶۷±۲/۵۱ a-d	۴۲/۳۳±۲/۰۸ ab	۴۵/۳۳±۳/۷۸ ab	۶۳/۶۷±۳/۰۵ a-f	Aybatan	
سازگار	۲۰/۰۰±۴/۰۱ c-g	۲۸/۰۰±۳/۴۶ a-d	۴۱/۰۰±۳/۶۰ a-e	۶۶/۳۳±۲/۳۰ a-e	177 NM	ASG
سازگار	۱۴/۶۷±۰/۵۷ h-j	۳۱/۶۷±۳/۵۱ d-f	۳۳/۶۷±۲/۸۸ d-i	۶۸/۶۷±۲/۵۱ a-c	KOSH 269	
سازگار	۱۲/۳۳±۲/۰۸ i-k	۲۷/۰۰±۴/۰۰ e-h	۲۸/۳۳±۵/۵۰ h-k	۶۷/۳۳±۳/۲۱ a-d	190 HB	
سازگار	۱۵/۰۰±۱/۷۳ g-j	۳۵/۰۰±۳/۴۶ b-d	۲۹/۳۳±۲/۵۱ h-k	۵۷/۶۷±۱/۱۵ d-h	Open Pollination	
سازگار	۲۵/۰۰±۳/۶۰ ab	۴۱/۶۷±۵/۵۱ ab	۴۷/۳۳±۳/۵۱ a	۶۵/۰۰±۲/۰۱ a-e	GER	
سازگار	۲۰/۳۳±۵/۱۳ b-f	۳۹/۳۳±۲/۰۸ a-c	۳۹/۳۳±۳/۲۱ a-f	۶۶/۶۷±۵/۰۷ a-e	Aybatan	
سازگار	۱۶/۳۳±۳/۵۱ f-j	۳۷/۰۰±۳/۰۰ a-d	۳۳/۳۳±۴/۱۶ e-i	۵۲/۳۳±۳/۰۵ g-j	177 NM	AD503
سازگار	۱۴/۶۷±۲/۵۱ h-j	۳۳/۳۳±۴/۰۴ c-e	۳۰/۶۷±۲/۳۱ g-k	۵۶/۶۷±۱/۱۵ e-i	KOSH 269	
نسبتاً سازگار	۱۱/۳۳±۲/۸۸ jk	۲۴/۳۳±۳/۷۸ gh	۲۵/۶۷±۳/۵۱ i-k	۶۶/۶۷±۶/۱۱ a-e	190 HB	
سازگار	۱۶/۶۷±۴/۰۴ f-i	۳۵/۶۷±۵/۶۸ b-d	۳۱/۳۳±۲/۸۸ f-k	۶۲/۰۰±۱/۰۰ b-g	Open Pollination	
سازگار	۲۶/۰۰±۲/۶۴ a	۴۱/۶۷±۱/۵۲ ab	۴۳/۳۳±۶/۱۱ ab	۵۸/۰۰±۴/۰۲ d-h	GER	
سازگار	۲۳/۳۳±۱/۵۲ a-c	۳۷/۳۳±۳/۲۱ a-d	۳۵/۰۰±۲/۶۴ c-h	۵۴/۳۳±۳/۰۵ f-j	Aybatan	
سازگار	۱۸/۰۰±۳/۶۰ d-h	۳۵/۳۳±۱/۵۲ b-d	۳۸/۳۳±۴/۵۱ b-g	۶۲/۶۷±۶/۰۲ b-f	177 NM	AD740
سازگار	۱۶/۳۳±۳/۲۱ f-j	۳۳/۳۳±۱/۵۲ c-e	۲۹/۳۳±۳/۰۵ h-k	۴۷/۳۳±۴/۵۱ ij	KOSH 269	
سازگار	۱۳/۳۳±۲/۰۸ h-j	۲۶/۶۷±۳/۲۱ e-h	۲۴/۶۷±۳/۰۵ jk	۴۶/۶۷±۴/۷۲ h-j	190 HB	
سازگار	۱۷/۰۰±۳/۰۲ f-i	۴۳/۶۷±۹/۲۹ a	۳۳/۰۰±۳/۴۶ e-j	۵۲/۰۰±۴/۳۶ gh	Open Pollination	
-	۴/۳۹	۶/۲۹	۷/۲۹	۸/۶۱	-	LDS 1%

\*حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ توسط آزمون دانکن می‌باشد.

ردیابی میکروسکوپی لوله‌گرده درون مادگی: روند تغییرات رشد لوله‌گرده ژنوتیپ‌های گرده‌زا در سطح کلالة، یک چهارم بالایی خامه، یک دوم میانی خامه، سه چهارم پایینی خامه، قاعده خامه و درون تخمدان ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده در جدول ۳ نشان داده شده است. تعداد دانه‌گرده روی کلالة از ۳۶ تا ۵۶ دانه، دانه‌گرده جوانه زده از ۳۲ تا ۵۰ دانه، لوله‌گرده رشد کرده

در یک چهارم بالایی خامه از ۳۰ تا ۴۷ عدد، در بخش میانی خامه از ۱۷ تا ۳۴ عدد، در سه چهارم پایینی خامه از ۱۱ تا ۲۳ عدد، در بخش پایینی خامه از ۸ تا ۱۷ عدد و نهایتاً در درون تخمدان از ۴ تا ۱۰ عدد متغیر بود. در همه این تلاقی‌ها تعداد لوله‌گرده در حال رشد با گذشت زمان از سطح کلالة به سوی تخمدان کاهش یافت ولی رشد لوله‌گرده تا درون تخمدان مشاهده گردید.

جدول ۳- ردیابی لوله گرده ژنوتیپ‌های گرده‌زا درون مادگی ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده زردآلو

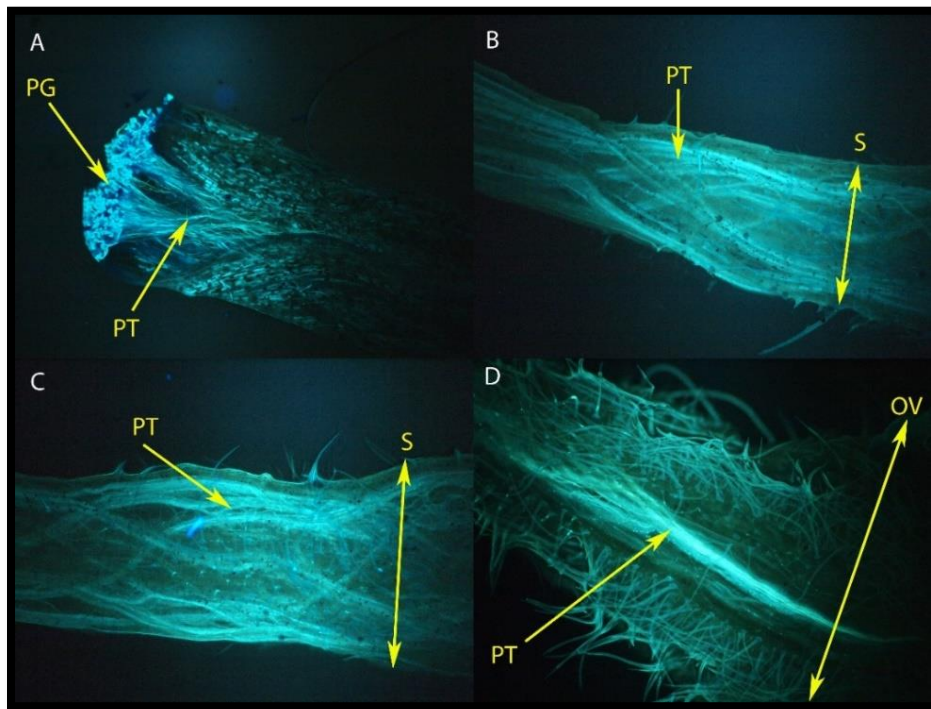
وضعیت سازگاری	لوله گرده درون تخمندان	لوله گرده در انتهای خامه	لوله گرده در ۳/۴ پایینی خامه	لوله گرده در ۱/۲ میانی خامه	لوله گرده در ۱/۴ بالایی خامه	دانه گرده جوانه زده	دانه گرده روی کلاله	تعداد مادگی	گرده‌زا	گرده‌گیرنده
سازگار	۷	۹	۱۷	۲۷	۴۲	۴۵	۴۹	۷	GER	Ordoubad 90
سازگار	۱۰	۱۲	۱۸	۳۰	۴۷	۴۹	۵۲	۷	Aybatan	
سازگار	۶	۱۰	۱۲	۲۵	۳۷	۴۰	۴۳	۷	177 NM	
سازگار	۵	۱۱	۱۹	۳۲	۴۵	۴۷	۵۲	۷	KOSH 269	
سازگار	۶	۱۱	۱۸	۲۸	۴۱	۴۴	۴۷	۷	190 HB	
سازگار	۶	۱۳	۱۶	۲۰	۳۱	۳۴	۳۸	۷	Open Pollination	
سازگار	۹	۱۵	۱۹	۲۹	۴۶	۵۰	۵۶	۷	GER	ASG
سازگار	۵	۸	۱۱	۲۵	۳۷	۴۱	۴۵	۷	Aybatan	
سازگار	۷	۱۱	۱۵	۲۴	۳۳	۳۶	۳۹	۷	177 NM	
سازگار	۶	۱۲	۲۰	۲۷	۳۹	۴۲	۴۸	۷	KOSH 269	
سازگار	۴	۸	۱۴	۲۵	۳۶	۳۸	۴۳	۷	190 HB	
سازگار	۷	۹	۱۲	۱۷	۳۰	۳۲	۳۷	۷	Open Pollination	
سازگار	۱۰	۱۷	۲۱	۳۴	۴۶	۴۸	۵۴	۷	GER	AD503
سازگار	۹	۱۷	۲۳	۳۳	۴۳	۴۶	۵۱	۷	Aybatan	
سازگار	۵	۱۱	۱۷	۲۵	۳۸	۴۲	۴۸	۷	177 NM	
سازگار	۵	۱۲	۱۶	۲۴	۳۷	۴۰	۴۵	۷	KOSH 269	
سازگار	۴	۱۰	۱۷	۳۱	۴۴	۴۷	۵۱	۷	190 HB	
سازگار	۸	۱۲	۱۶	۲۲	۳۰	۳۲	۳۶	۷	Open Pollination	
سازگار	۵	۹	۱۶	۳۲	۴۳	۴۵	۴۹	۷	GER	AD740
سازگار	۶	۱۲	۱۵	۲۲	۳۱	۳۴	۳۹	۷	Aybatan	
سازگار	۸	۱۳	۱۷	۲۶	۴۰	۴۳	۵۰	۷	177 NM	
سازگار	۵	۱۱	۱۸	۲۹	۳۷	۴۱	۴۷	۷	KOSH 269	
سازگار	۶	۱۳	۲۲	۳۱	۴۴	۴۷	۵۱	۷	190 HB	
سازگار	۷	۱۲	۱۸	۲۳	۳۱	۳۳	۳۷	۷	Open Pollination	

برخی از ژنوتیپ‌ها احتمالا به دلیل تفاوت در پتانسیل ژنتیکی ارقام بوده است. بررسی‌ها با استفاده از میکروسکوپ مجهز به نور فلئورسنت نیز نشان داد که تندش دانه گرده در سطح کلاله و رشد لوله گرده درون خامه برای تمامی ارقام گرده‌زای مورد مطالعه به صورت مطلوبی صورت گرفته است. اکثر ارقام زردآلو دانه‌های گرده خیلی زیاد با زیوایی خوب تولید می‌کنند که در محدوده وسیعی از دمای هوا لوله‌های گرده را پدید می‌آورند (اگه و بورگوس ۱۹۹۲).

تساویر مربوط به جوانه‌زنی دانه گرده و رشد لوله گرده در سطح کلاله، یک چهارم بالایی خامه، یک دوم خامه، پایین خامه و درون تخمدان پس از دگر گرده افشانی در شکل ۳ آورده شده است.

### بحث

جوانه‌زنی دانه گرده به میزان ۸۳-۵۹٪ نشان‌دهنده نر باروری مناسب ژنوتیپ‌های گرده‌زا و عدم وجود نر عقیمی در آنها بود. مقادیر کمتر جوانه‌زنی دانه گرده در



شکل ۳- تصویر میکروسکوپی دانه‌های گرده جوانه زده در سطح کلاله و لوله‌های گرده در حال رشد در یک چهارم بالایی خامه (A)، یک دوم میانی خامه (B)، سه چهارم پایینی خامه (C)، و درون تخمدان (D). دانه‌های گرده با PG، لوله‌های گرده با PT، خامه گل با S، و تخمدان گل با OV نمایش داده شده‌اند.

گرده‌گیرنده از سازگاری دانه گرده مناسبی برخوردار بودند و مشاهدات میکروسکوپی نیز دگر سازگاری در آنها را تأیید نمود. لیکن تفاوت آماری معنی‌داری در تشکیل میوه ژنوتیپ‌های گرده‌گیرنده با توجه به نوع ژنوتیپ گرده‌زا مشاهده شد. بطوریکه از میان ژنوتیپ‌های گرده‌زای مورد مطالعه، ژنوتیپ‌های AYB و NM برای Ordoubad90، ژنوتیپ‌های AYB و GER برای ASG، ژنوتیپ‌های NM و GER برای AD503 و نهایتاً ژنوتیپ‌های NM و GER برای AD740 به عنوان مناسب‌ترین ژنوتیپ‌های گرده‌زا از نظر سازگاری دانه گرده و همچنین همپوشانی زمان گل‌دهی تعیین شدند. در مجموع، دانه گرده ژنوتیپ‌های GER و NM سازگاری بیشتر و ژنوتیپ HB سازگاری کمتری با ژنوتیپ‌های والد مادری نشان دادند ولی در میان ارقام مورد مطالعه دگر ناسازگاری کامل مشاهده نگردید. از سوی دیگر ژنوتیپ AD503 دارای پتانسیل

ریزش میوه‌چه‌ها در مراحل اولیه نمو میوه از مهم‌ترین مشکلات پرورش زردآلو به شمار می‌آید که علاوه بر خود ناسازگاری، دگر ناسازگاری گل‌ها نیز در بروز آن موثر است (بورگوس و همکاران ۲۰۰۴). در میان محققین نظرات مختلفی در رابطه با روش و مراحل نمودی ارزیابی میوه برای این ویژگی وجود دارد. با این حال، مطالعه میوه‌بندی نهایی پس از تلاقی کنترل شده به عنوان مهمترین شاخص برای ارزیابی دگر ناسازگاری ارقام در اکثر تحقیقات دو دهه اخیر گزارش شده است (وانگ و همکاران ۲۰۱۳). ارقام زردآلو از نظر سازگاری دانه گرده به دو گروه عمده تقسیم می‌شوند: سازگار ( $\geq 5\%$ ) و ناسازگار ( $\leq 5\%$ ) که مبنای آن درصد تشکیل میوه نهایی پس از خود یا دگر گرده‌افشانی در باغ می‌باشد (ژانگ و همکاران ۲۰۰۸؛ زو و همکاران ۲۰۱۰؛ وو و همکاران ۲۰۱۱). بر این اساس همه ژنوتیپ‌های گرده‌زای مورد مطالعه با ژنوتیپ‌های

باروری بیشتر و ژنوتیپ Ordoubad90 دارای پتانسیل باروری کمتری بودند.

در این تحقیق، با تاکید بر درصد میوه‌بندی نهایی، مقادیر برای درصد میوه‌بندی اولیه نیز آورده شده است. اگرچه درصد میوه‌بندی اولیه در گل‌های دگر گرده-افشانی شده در همه این ژنوتیپ‌ها قابل ملاحظه بود، ولی به دلیل عدم تلقیح کامل گل‌ها و در نتیجه تشکیل نشدن جنین، ریزش میوه‌چه‌ها مشهود بوده و میوه‌بندی نهایی کاهش چشمگیری نشان داد. ریزش اولیه میوه‌چه‌ها معمولا سنگین‌ترین ریزش بوده و طی آن میوه‌چه‌های ریز و نمو نیافته حاصل از تلقیح ناقص گل‌ها ریزش می‌کند (ژانگ و همکاران ۲۰۰۸؛ وو و همکاران ۲۰۱۱). علاوه بر این، مقادیر درصد میوه‌بندی اولیه و نهایی پس از گرده‌افشانی آزاد به منظور نشان دادن پتانسیل باروری ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط طبیعی آورده شده است. درصد تشکیل میوه نهایی پس از گرده-افشانی آزاد طی دو سال متوالی متفاوت بود که با کاهش قابل توجه دمای هوا در سال دوم، بارندگی، باد و کاهش فعالیت حشرات گرده‌افشان مرتبط بوده است.

از میکروسکوپ مجهز به نور فلئورسنت برای تعیین سازگاری دانه گرده توسط محققین مختلف استفاده شده است (میلاتویک و همکاران ۲۰۱۰؛ دوردویک و همکاران ۲۰۱۰، ۲۰۱۴). با استفاده از این روش، در تلاقی‌های سازگار حداقل یک لوله گرده در حال رشد درون تخمدان دیده می‌شود، درحالی‌که در تلاقی‌های ناسازگار رشد لوله گرده در سه چهارم تحتانی خامه متوقف شده، چند شاخه‌ای شدن نوک لوله گرده و تشکیل پلاک‌های کالوز قابل مشاهده است (اورتگا و دیسنتا ۲۰۰۳؛ سادرلند و همکاران ۲۰۰۸). بر این اساس در تلاقی‌های کنترل شده با استفاده از همه ژنوتیپ‌های گرده‌زای مورد مطالعه، رشد لوله گرده تا درون تخمدان ردیابی گردید و سازگاری دانه گرده بین

ژنوتیپ‌های گرده‌زا و گرده‌گیرنده به اثبات رسید. این نتایج با یافته‌های حاصل از مطالعه میوه‌بندی نهایی پس از دگر گرده‌افشانی در شرایط باغی مطابقت داشت. تعداد دانه‌های گرده جوانه زده در سطح کلاله و لوله‌های گرده در حال رشد درون خامه در بین ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بوده و بر میوه‌بندی ژنوتیپ‌های زردآلو موثر بود. گزارش‌های مختلف نشان می‌دهند که هر چه تعداد لوله‌های گرده در حال رشد درون خامه بیشتر باشد، شانس موفقیت در باروری در درختان میوه را افزایش خواهد داد (اگه و بورگوس ۱۹۹۹).

روش‌های رنگ آمیزی لوله گرده درون خامه قبلا توسط محققین مختلف توصیف شده‌اند (اگه و بورگوس ۱۹۹۶؛ بورگوس و همکاران ۱۹۹۷). دیواره سلولی لوله گرده دارای دو لایه اصلی با ساختمان پلی ساکاریدی می‌باشد که لایه داخلی آن دارای مقادیر زیادی کالوز یا ۱ و ۳- بتا گلوکان<sup>۲</sup> است (نیو بیگین و همکاران ۱۹۹۳). زمانی که لایه کالوز با استفاده از آنیلین بلو<sup>۳</sup> شود، در اثر تابش با نور ماورای بنفش به صورت فلئورسانس درمی‌آید. مقادیر کالوز در لوله‌های گرده ناسازگار در مقایسه با سازگار بسیار بیشتر است، به ویژه اینکه مقادیر خیلی زیادی از کالوز در نوک متورم شده لوله‌های گرده ناسازگار انباشته می‌شود (میلاتویک و همکاران ۲۰۱۳ الف). گزارشات مختلفی از مدت زمان لازم برای رسیدن لوله گرده به تخمدان در درختان میوه وجود دارد. گوریرو و بارتولینی (۱۹۹۵) گزارش نمودند که ۷۲ ساعت بعد از گرده‌افشانی برای رسیدن لوله‌های گرده سازگار به تخمدان باید سپری شود، درحالی‌که برخی از محققین دیگر معتقد بودند که این مدت زمان به نوع رقم وابسته بوده و در برخی از ارقام کافی نمی‌باشد (میلاتویک و نیکولیک ۲۰۰۷). اودرگون و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه برخی از ژنوتیپ‌های زردآلو زمانی که تثبیت مادگی ۹۶ ساعت

<sup>3</sup> Aniline Blue

<sup>1</sup> Polysaccharide  
<sup>2</sup> 1,3 beta Glucan

که به غیر از رقم 'پورتیجی' سایر ارقام مورد مطالعه خود ناسازگار بوده و درصد میوه‌بندی نهایی پس از خود گرده‌افشانی در آنها ناچیز بود. از طرف دیگر همه این ارقام با یکدیگر سازگاری دانه گرده خوبی داشته و در یک گروه دگر سازگاری قرار گرفتند. مطالعه میکروسکوپی رشد لوله گرده درون خامه نیز نتایج حاصل از تلاقی‌های کنترل شده را تأیید کرد و وجود حداقل یک لوله گرده رشد کرده درون تخمدان به منزله سازگار بودن تلاقی منظور گردید (قره شیخ بیات ۲۰۱۰). در مطالعه دیگری میوه‌بندی اولیه و نهایی پس از خود و دگر گرده‌افشانی و نیز ردیابی رشد لوله گرده درون مادگی برای دو رقم زردآلوی بومی ایران شامل 'قرمز شاهرودی' و 'قربان مراغه' مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میوه‌بندی نهایی و تعداد لوله گرده در بخش پایینی خامه و درون تخمدان در رقم 'قربان مراغه' بیشتر بوده، درحالی‌که بیشترین ریزش میوه در رقم 'قرمز شاهرودی' مشاهده گردید. همچنین ارقام 'اردوباد'، 'نصیری'، 'درشت ملایر' و 'قربان مراغه' به عنوان گرده‌زا برای رقم 'قرمز شاهرودی' و ارقام 'اردوباد'، 'نصیری'، 'درشت ملایر' و 'قرمز شاهرود' به عنوان گرده‌زا برای رقم 'قربان مراغه' از کارآیی خوبی برخوردار بودند (حاجیلو و همکاران ۲۰۰۶ ب).

با توجه به استعداد درختان زردآلو به میوه‌دهی نامنظم<sup>۴</sup> و سازگاری اکولوژیکی محدود (لدبتر ۲۰۰۸)، مطالعه گرده‌افشانی و تشکیل میوه در آنها اهمیت به سزایی دارد. این مهم نه تنها برای به‌نژادگران به منظور گزینش والدین مناسب در تلاقی‌های کنترل شده مورد توجه می‌باشد، بلکه برای تولیدکنندگان میوه نیز امکان مدیریت مطلوب باغ را فراهم می‌آورد. خود (نا)سازگاری و دگر (نا)سازگاری در زردآلو مدیریت باغ را با پیچیدگی‌هایی مواجه می‌کند (اگه و بورگوس ۱۹۹۹) و با توجه به این که معمولاً شرایط آب‌وهوایی در طول دوره

پس از گرده‌افشانی صورت گرفت، نتایج بهتری به دست آوردند. مطالعه حاضر نشان داد که ۹۶ ساعت برای رسیدن لوله‌های گرده سازگار به تخمدان کافی است. توقف رشد لوله‌های گرده ناسازگار معمولاً بلافاصله بعد از کلاله و یا در یک سوم بالایی خامه مشاهده می‌شود که در گیلان (رادیسویک و همکاران ۲۰۱۳)، آلبالو (تابوت و همکاران ۲۰۰۴)، بادام (کولیک و همکاران ۲۰۱۰) و زردآلو (حاجیلو و همکاران ۲۰۰۶) (الف) گزارش شده است. اگرچه، آندرس و دوران (۱۹۹۸) و میلانویک و همکاران (۲۰۱۳ ب) گزارش نمودند که رشد لوله‌های گرده ناسازگار در زردآلو معمولاً در سه چهارم تحتانی خامه متوقف می‌شود.

در گذشته مطالعات مربوط به ناسازگاری ارقام در درختان میوه تنها با محاسبه درصد میوه‌بندی پس از دگر گرده‌افشانی کنترل شده در شرایط مزرعه‌ای انجام می‌شد (بورگوس و همکاران ۱۹۹۳). سپس ردیابی میکروسکوپی رشد لوله گرده درون خامه پس از گرده‌افشانی کنترل شده در آزمایشگاه و در شرایط کنترل شده دما، رطوبت و فتوپریود برای تشخیص دگر (نا)سازگاری مرسوم گردید. این روش نتایج دقیق و قابل اعتمادی ارائه می‌نماید و همچنین در مقایسه با روش‌های مولکولی که در یک دهه گذشته گسترش یافته‌اند، مقرون به صرفه می‌باشد (میلانویک و همکاران ۲۰۱۳ الف؛ دوردویک و همکاران ۲۰۱۴). با این وجود، پتانسیل باردهی ژنوتیپ‌ها و مقایسه آنها با یکدیگر در این روش قابل ارزیابی نیست. در یک مطالعه خود (نا)سازگاری و دگر (نا)سازگاری چند رقم ایتالیایی زردآلو شامل 'ربادا' ۱، 'بورا' ۲، 'پینککت' ۳، 'مایا' ۴ و 'پورتیجی' ۵ با استفاده از مطالعه میوه‌بندی نهایی پس از تلاقی‌های کنترل شده در شرایط مزرعه‌ای در دو سال متوالی و نیز ردیابی میکروسکوپی لوله گرده درون خامه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد

<sup>۴</sup> Maya<sup>۵</sup> Portici<sup>۶</sup> Erratic fruit setting<sup>۱</sup> Robada<sup>۲</sup> Bora<sup>۳</sup> Pinkcot

این امر به ناپایداری در عملکرد درخت و عدم دستیابی به محصول پایدار و تجاری منجر می‌شود. بررسی دگر (نا)سازگاری بین ژنوتیپ‌های امیدبخش و تعیین بهترین والد گرده‌زا برای معرفی ارقام جدید با در نظر گرفتن دو عامل همپوشانی زمان گلدهی و سازگاری دانه گرده ضروری می‌باشد. در این راستا، ردیابی میکروسکوپی رشد لوله گرده درون خامه پس از تلاقی کنترل شده در آزمایشگاه یک روش موثر در تعیین دگر (نا)سازگاری درختان میوه به شمار می‌رود. این روش نتایج دقیق‌تر و قابل اعتمادتری را در مقایسه با مطالعه میوه‌بندی نهایی پس از خود گرده‌افشانی در باغ در دسترس قرار می‌دهد. با این وجود، برآورد عملکرد درخت و مقایسه بین ارقام گرده‌زا تنها با مطالعه میوه‌بندی نهایی پس از تلاقی کنترل شده در باغ امکان‌پذیر بوده و از این نظر به روش‌های دیگر برتری دارد. بر اساس نتایج این تحقیق، ژنوتیپ‌های گرده‌زای AYB و NM برای Ordoubad90، ژنوتیپ‌های گرده‌زای AYB و GER برای ASG و AD503 و نهایتاً ژنوتیپ‌های گرده‌زای NM و GER برای AD740 به عنوان مناسب‌ترین ژنوتیپ‌های گرده‌زا تعیین شدند. همچنین با ردیابی میکروسکوپی رشد لوله گرده درون مادگی نتایج آزمایشات مزرعه‌ای به تأیید رسید.

گلدهی آن مساعد نمی‌باشد، عدم گرده‌افشانی مناسب یک عامل محدود کننده در تولید میوه به شمار می‌آید (هالاسز و همکاران ۲۰۱۳). همه ژنوتیپ‌های گرده‌زا و گرده‌گیرنده مورد مطالعه در این تحقیق ویژگی خود ناسازگاری نشان دادند (نتایج منتشر نشده) که تحقیقات قبلی در مورد خود ناسازگاری در زردآلوهای گروه ایرانی-قفقازی<sup>۱</sup> را تأیید نمود (حاجیلو و همکاران ۲۰۰۶؛ هالاسز و همکاران ۲۰۱۰). بنابراین بررسی دگر (نا)سازگاری بین ژنوتیپ‌های امیدبخش و تعیین بهترین والد گرده‌زا برای معرفی ارقام جدید با در نظر گرفتن دو عامل همپوشانی زمان گلدهی و سازگاری دانه گرده ضروری بود. در این آزمایش نتایج ردیابی میکروسکوپی لوله گرده درون مادگی توانست نتایج حاصل از مطالعه میوه‌بندی نهایی پس از تلاقی کنترل شده در شرایط مزرعه‌ای را تأیید نماید. بعلاوه، ما دریافتیم در ژنوتیپ‌هایی که تعداد لوله‌های گرده نفوذ کرده به تخمدان بیشتر بود، درصد میوه‌بندی نهایی نیز بیشتر بود.

### نتیجه‌گیری کلی

زردآلوهای گروه ایرانی-قفقازی به دلیل ویژگی خود ناسازگاری به گرده‌افشانی با سایر ارقام نیاز دارند که

### منابع مورد استفاده

- Albuquerque N, Egea J, Perez-Tornero O and Burgos L. 2002. Genotyping apricot cultivars for self-(in) compatibility by means of RNase associated with *S* alleles. *Plant Breeding*, 121: 343-347.
- Alonso JM and Socias i Company R. 2005. Self-incompatibility expression in self-compatible almond genotypes may be due to inbreeding. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130:865-869.
- Andres MV and Duran JM. 1998. Self-incompatibility in Spanish clones of apricot (*Prunus armeniaca* L.) tree. *Euphytica*, 101:349-355.
- Audergon JM, Guerriero R, Monteleone P and Viti R. 1999. Contribution to the study of inheritance of the character self-incompatibility in apricot. *Acta Horticulturae*, 488:275-280.
- Burgos L, Egea J, Guerriero R, Viti R, Monteleone P and Audergon JM. 1997. The self-compatibility trait of the main apricot cultivars and new selections from breeding programmes. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 72:147-154.

<sup>1</sup> Irano-Caucasian apricot Group

- Burgos L, Alburquerque N and Egea J. 2004. Review: Flower biology in apricot and its implications for breeding. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2):227-241.
- Burgos L, Perez-Tornero O, Ballester J and Olmos E. 1998. Detection and inheritance of stylar ribonucleases associated with incompatibility alleles in apricot. *Sexual Plant Reproduction*, 11:153-158.
- Burgos L, Berenguer T and Egea J. 1993. Self- and cross-compatibility among apricot cultivars. *Hortscience*, 28: 148-150.
- Colic S, Zec G, Fotiric Aksic M, Rahovic D and Jankovic Z. 2010. Evaluation of self-(in) compatibility in the almond (*Prunus amygdalus* Batsch) genotype population from the Slankamen Hill, Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 62(4):973-979.
- De Nettancourt D. 2001. *Incompatibility and Incongruity in Wild and Cultivated Plants*. (2nd Ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany, 314 pp.
- Dejampour J, Rahnemoun H and Zarrinbal M. 2011. Investigation of main factors on bearing and blossoms hardiness of apricot cultivars in relative flowers biology. *Acta Horticulturae*, 966:51-55.
- Dordevic M, Cerovic R, Nikolic D and Radicevic S. 2010. Unusual behavior of growing pollen tubes in the ovary of plum culture (*Prunus domestica* L.). *Archives of Biological Sciences*, 62(1): 137-142.
- Dordevic M, Cerovic R, Radicevic S and Nikolic D. 2014. Incompatible pollen tubes in the plum style and their impact on fertilization success. *Genetika-Belgrade*, 46(2):411-418.
- Egea J and Burgos L. 1992. Effective pollination period as related to stigma receptivity in apricot. *Scientia Horticulturae*, 52:77-83.
- Egea J and Burgos L. 1996. Detecting cross-incompatibility of three North American apricot cultivars and establishing the first incompatibility group in apricot. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(6):1002-1005.
- Egea J and Burgos L. 1999. Apricot breeding at the C.S.I.C. in Murcia, Spain. *Acta Horticulturae*, 484: 179-181.
- Egea J, Garcia JE, Egea L and Berenguer T. 1991. Self-incompatibility in apricot cultivars. *Acta Horticulturae*, 293:285-293.
- Entani T, Iwano M, Shiba H, Che FS, Isogai A and Takayama S. 2003. Comparative analysis of the self-incompatibility (*S*-) locus region of *Prunus mume*: Identification of a pollen-expressed F-box gene with allelic diversity. *Genes to Cells*, 8, 203-213.
- Faust M, Suranyi D and Nyujto F. 1998. Origin and dissemination of apricot. *In: Janick J (Ed.), Horticultural Reviews. Vol 22*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 225-266.
- Fotiric-Aksic M, Rakonjac V, Nikolic D, Colic S, Milatovic D, Licina V and Rahovic D. 2014. Effective pollination period in "Oblacinska" sour cherry clones. *Genetika-Belgrade*, 46(3):671-680.
- Gharesheikhsbayat R. 2010. Self-incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.); new achievements and molecular aspects of *S*-locus allele segregation. Ph.D. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Bologna, Italy. 160 pp.
- Guerriero R and Bartolini S. 1995. Flower biology in apricot: main aspects and problems. *Acta Horticulturae*, 384:261-272.
- Hajilou J, Grigorian V, Mohammadi SA, Nazemmieh A and Burgos L. 2006a. Pollen tube growth and fruit set percentage in two apricot cultivars under self and cross-pollination conditions. *Iranian journal of Horticultural Science and Technology*, 7(3): 147-156. (In Persian).
- Hajilou J, Grigorian V, Mohammadi SA, Nazemmieh A, Romero C, Vilanova S and Burgos L. 2006b. Self- and cross-(in) compatibility between important apricot cultivars in northwest Iran. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 81:513-517.

- Halasz J, Pedryc A and Hegedus A. 2007. Origin and dissemination of the pollen-part mutated Sc haplotype which confers self-compatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *New Phytologist*, 176:792–803.
- Halasz J, Pedryc A, Ercisli S, Yilmaz KU and Hegedus A. 2010. S-genotyping supports the genetic relationships between Turkish and Hungarian apricot germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 135(5):410–417.
- Halasz J, Hegedus A, Szikriszt B, Ercisli S, Orhan E and Unlu HM. 2013. The S-genotyping of wild-grown apricots reveals only self-incompatible accessions in the Erzincan region of Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 37, 733-740.
- Hartman E, Levy C, Kern DM, Johnson MA and Basu A. 2014. A rapid, inexpensive and semi-quantitative method for determining pollen tube extension using fluorescence. *Plant Methods*, 10(3):1-6.
- Hu X, Zheng P, Ni B, Miao X, Zhao Zh and Li M. 2018. Population genetic diversity and structure analysis of wild apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by SSR markers in the Tien-Shan mountains of China. *Pakistan Journal of Botany*, 50(2): 609-615.
- Ishimizu T, Inoue K, Shimonaka M, Saito T, Terai A and Norioka S. 1999. PCR-based method for identifying the S-genotypes of Japanese pear cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 961-967.
- Jacquemart AL. 2007. Methods for determining compatibility and pollinator efficiency in temperate fruit species. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 1(1):26-38.
- Ledbetter CA. 2008. Apricots, in: Hancock JF. (Eds.), temperate fruit crop breeding. Springer, New York, pp. 39–82.
- Milatovic D and Nikolic D. 2007. Analysis of self-(in) compatibility in apricot cultivars using fluorescence microscopy. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 82:170–174.
- Milatovic D, Nikolic D and Krska B. 2013a. Testing of self-(in) compatibility in apricot cultivars from European breeding programmes. *Horticultural Science (Prague)*, 40(2):65-71.
- Milatovic D, Nikolic D, Fotiric-Aksic M and Radovic A. 2013b. Testing of self-(in) compatibility in apricot cultivars using fluorescence microscopy. *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 12(6):103-113.
- Milatovic D, Nikolic D, Rakonjac V and Fotiric-Aksic M. 2010. Cross-incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 85:394–398.
- Molaie S, Soleimani A, Zeinolabedini M and Maleki B. 2014. Study of Self-Incompatibility in some Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Genotypes Using Classic and Molecular Methods. *Seed and Plant Improvement Journal*, 30(4): 777-790. (In Persian).
- Newbigin E, Anderson MA and Clark AE. 1993. Gametophytic self-incompatibility systems. *Plant Cell*, 5(10):1315–1324.
- Nikolic D and Milatovic D. 2010. Examining self-compatibility in plum (*Prunus domestica* L.) by fluorescence microscopy. *Genetika-Belgrade*, 42(2):387–396.
- Ortega E and Dicenta F. 2003. Inheritance of self-compatibility in almond: breeding strategies to assure self-compatibility in the progeny. *Theoretical and Applied Genetics*, 106(5):904-911.
- Ortega E and Dicenta F. 2006. Self-fertilization in homozygous and heterozygous self-compatible almonds. *Scientia Horticulturae*, 109:288-292.
- Ortega E, Egea J, Canovas JA and Dicenta F. 2002. Pollen tube dynamics following half- and fully-compatible pollinations in self-compatible almond cultivars. *Sexual Plant Reproduction*, 15: 47-51.
- Radicevic S, Maric S, Cerovic R and Dordevic M. 2013. Assessment of self- (in) compatibility in some sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes. *Genetika-Belgrade*, 45(3): 939–952.
- Rasouli M, Arzani K, Eimani A and Fattahi Moghadam MA. 2010. An Investigation of the Pollination Compatibility of some Sweet Cherry Cultivars on ‘Zard Daneshkada’. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 41(2): 143-152. (In Persian).



- Romero C, Vilanova S, Burgos L, Martinez-Calvo J, Vicente M, Llacer G and Badenes ML. 2004. Analysis of the S-locus structure in *Prunus armeniaca* L. Identification of the S-haplotype specific S-RNase and F-box genes. *Plant Molecular Biology*, 56: 145-157.
- Sanzol J. 2009. Genomic characterization of self-incompatibility ribonucleases (S-RNases) in European pear cultivars and development of PCR detection for 20 alleles. *Tree Genetics & Genomes*, 5: 393-405.
- Sanzol J and Herrero M. 2002. Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Euphytica*, 128: 325-331.
- Sonneveld T, Tobbutt KR and Robbins TP. 2003. Allele-specific PCR detection of sweet cherry self-incompatibility (S) allele S<sub>1</sub>-S<sub>16</sub> using consensus and alleles-specific primers. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(6), 1059-1070.
- Sutherland BG, Tobutt KR and Robbins TP. 2008. Trans-specific S-RNase and SFB alleles in *Prunus* self-incompatibility haplotypes. *Molecular Genetics and Genomics*, 279:95-106.
- Tobutt KR, Boskovic R, Cerovic R, Sonneveld T and Ruzic DJ. 2004. Identification of incompatibility alleles in the tetraploid species sour cherry. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(5):775-785.
- Vilanova S, Badenes ML, Burgos L, Martinez-Calvo J, Liacer G and Romero C. 2006. Self-compatibility of two apricot selections is associated with two pollen-part mutations of different nature. *Plant Physiology*, 142(2):629-641.
- Vilanova S, Romero C, Liacer G and Badenes ML, 2005. Identification of self (in)-compatibility alleles in apricot (*Prunus armeniaca* L.) by PCR and sequence analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130(6), 893-898.
- Wang PP, Gao ZH, Ni, ZJ, Zhang Z and Cai BH. 2013. Self-compatibility in “Zaohong” Japanese apricot is associated with the loss of function of pollen S genes. *Molecular Biology Reports*, 40(11):6485-6493.
- Wu J, Gu C, Du YH, Wu HQ, Liu WS, Liu N, Lu J and Zhang SL. 2011. Self-compatibility of “Katy” apricot (*Prunus armeniaca* L.) is associated with pollen-part mutation. *Sexual Plant Reproduction*, 24(1):23-35.
- Xu J, Gao Zh and Zhang Zh. 2010. Identification of S-genotypes and novel S-RNase alleles in Japanese apricot cultivars native to China. *Scientia Horticulturae*, 123(4), 459-463.
- Zhang L, Chen XS, Chen MX, Zhang C, Liu X, Ci Z, Zhang H, Wu C and Liu C. 2008. Identification of self-incompatibility (S-) genotypes of Chinese apricot cultivars. *Euphytica*, 160, 241-248.
- Zhebentyayeva T, Ledbetter C, Burgos L and Llacer G. 2012. Apricot. *In*: Badenes ML and Byrne DH (Eds), *Fruit Breeding*. Springer, New York, pp 415-458.