

بررسی تشکیل دانه و میوه در تلاقی‌های دوطرفه زرشک بی‌دانه و ژنوتیپ‌های وحشی زرشک

مهدی رضائی^{۱*} و احمد بالندری^۲

۱. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود

۲. استادیار پژوهشکده گروه صنایع غذایی مشهد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۳/۱۲)

چکیده

در این پژوهش طی سه سال متوالی (۱۳۸۹-۱۳۹۱) یک سری تلاقی‌های دوطرفه بین ژنوتیپ‌های وحشی زرشک و زرشک بی‌دانه باغی انجام گرفت و میزان تشکیل دانه و میوه در این تلاقی‌ها بررسی شد و سپس بقای دانه‌ها در سیستم‌های کشتی ارزیابی شد. نتایج نشان‌دهنده اثر معنادار ژنوتیپ دانه‌گرده در درصد تشکیل میوه، دانه و میوه‌های دانه‌دار زرشک باغی بود. دانه‌گرده ژنوتیپ R2N1 به ترتیب با ۴۶ و ۲/۲۲ درصد تشکیل میوه و دانه‌گرده ژنوتیپ R4N1 با ۶۹ و ۲۲/۲۰ درصد تشکیل میوه و دانه کمترین و بیشترین میزان را داشتند. همچنین اختلاف معناداری بین ژنوتیپ‌ها در درصد تشکیل میوه، دانه و میوه‌های دانه‌دار هنگام گرده‌افشانی با دانه‌گرده زرشک بی‌دانه وجود داشت. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که دانه‌های گرده زرشک بی‌دانه باغی کارایی لازم در تشکیل دانه در ژنوتیپ‌های وحشی زرشک را دارند و پدیده نرعیمی در زرشک باغی وجود ندارد. نتایج بررسی میزان بقای دانه‌ها نشان داد که کشت بهاره دانه در بستر کوکویت مخلوط با کمی پرلایت در زیر سیستم میست به میزان قابل توجهی درصد بقای دانه‌ها را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: بقای دانه‌ها، دانه‌گرده، گرده‌افشانی.

مقدمه

پنج گونه وحشی زرشک شامل زرشک معمولی (*Berberis vulgaris*)، زرشک راست‌خوشه (*B. orthobotrys*)، زرشک خراسانی (*B. khorasanica*)، زرشک زالزالکی (*B. crataegina*) و زرشک زرافشانی (*B. integerrima*) وجود دارد (Kafi et al., 2002). در مورد گونه‌های زرشک موجود در ایران به خصوص زرشک‌های زرافشانی و زالزالکی اسامی علمی مشابه زیادی وجود دارد و زرشک خراسانی اندمیک ایران است (Kafi et al., 2002). پژوهش‌های اخیر نشان می‌دهد که احتمالاً زرشک باغی بی‌دانه متعلق به گونه *B. integerrima* است (Sodagar et al., 2011; Rezaei et al., 2012; Heidari et al., 2009). جنس زرشک

زرشک بی‌دانه یکی از محدود محصولات ویژه و منحصر به فردی است که تنها در کشور ایران تولید می‌شود. شهرستان‌های قائن و بیرجند مهم‌ترین مناطق تولید زرشک در ایران محسوب می‌شوند (Tehranifar, 2002; Alemardan et al., 2013). انواع مختلف زرشک به دلیل موارد استفاده متعدد از جمله زینتی، دارویی و یا مصارف خوراکی در سراسر جهان اهمیت دارند (Cadic, 1992; Arayne et al., 2007).

جنس زرشک بزرگ‌ترین جنس در تیره زرشک است و گفته شده که این جنس حدود ۴۵۰ تا ۵۰۰ گونه دارد (Tiwari et al., 2012). در ایران طبق نظر گیاه‌شناسان،

Heidari) *B. integerrima* میوه‌های دانه تولید می‌کند (et al., 2010). در این پژوهش نتیجه‌گیری شده است که در زرشک بی‌دانه باغی سیستم تشکیل میوه به صورتی تکامل یافته است که حتی بدون تحریک لازم توسط عمل گرده‌افشانی نیز میوه بی‌دانه تشکیل می‌شود. با وجود دو پژوهش صورت گرفته هنوز برخی سؤالات بدون پاسخ مانده‌اند. آیا دانه‌گرده زرشک بی‌دانه قدرت جوانه‌زنی و نفوذ در گونه وحشی زرشک را دارد؟ در این صورت توانایی تلقیح تخمک دانه‌داری و وضعیت میوه‌ها به چه صورتی است؟ پرسش دیگر در مورد آثار دانه‌گرده ژنوتیپ‌های وحشی به روی زرشک بی‌دانه است. آیا دانه‌گرده ژنوتیپ‌های مختلف زرشک از نظر باروری تخمک زرشک بی‌دانه با یکدیگر تفاوتی دارند؟ از این‌رو در این پژوهش به منظور پاسخ‌گویی به این ابهامات سعی کرده‌ایم فرایند گرده‌افشانی و تشکیل دانه را در یک سری تلاقی‌ها بین ژنوتیپ بی‌دانه و ژنوتیپ‌های دانه‌دار زرشک ارزیابی کنیم و در مرحله بعد به دلیل نقش مهم تکنیک تولید دانه‌ها در اصلاح گیاهان، اطلاعات اولیه مورد نیاز در تولید دانه‌ها را طی یک رشته آزمایش‌های اولیه به دست آوریم.

مواد و روش‌ها

تلاقی ژنوتیپ‌های وحشی زرشک با زرشک بی‌دانه باغی برای تشخیص علل بی‌دانه‌گی در زرشک باغی، آزمایش تعیین وضعیت سازگاری با گرده‌افشانی کنترل شده طی سه سال متوالی ۱۳۸۹، ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در محل کلکسیون زرشک پارک علم و فناوری مشهد طراحی و اجرا شد.

برای بررسی اثر دانه‌گرده ژنوتیپ‌های زرشک وحشی بر تشکیل میوه و دانه در زرشک بی‌دانه باغی به دلایلی که در ادامه توضیح داده می‌شود در سال‌های مختلف از گرده ژنوتیپ‌های متفاوت استفاده شد. در سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ گرده‌های ژنوتیپ زرشک دانه‌دار با کدهای R2N1 و R5N1 (به ترتیب مربوط به گونه‌های *Berberis integerrima* و *B. crataegina* × *integerrima*) و در سال ۱۳۹۱ گرده‌های ژنوتیپ‌های R2N1، R5N1 و R4N1 (*Berberis integerrima*) و R9N3 (گونه ناشناخته) از کلکسیون زرشک واقع در

خودبارور و اختصاصاً اتوگام است (Cadic, 1992). خاصیت سیسموناستی (Seismonasty) بساک‌ها (حالتی که سبب باز شدن یکباره بساک و رها شدن گرده به روی کلاله می‌شود) و رفتار زنبورهای خرمایی یا زنبور عسل هنگام استفاده از نکتار گل‌ها به خود گرده‌افشانی آن کمک می‌کند (Cadic, 1992; Anderson et al., 2001). در این مکانیزم بساک‌ها با لمس یا تکان خوردن به وسیله باد یا حشرات به سرعت پاره می‌شوند و دانه‌گرده با ریختن روی کلاله سبب خود گرده‌افشانی می‌شود (Anderson et al., 2001). با این وجود در برخی منابع دیگر گرده‌افشانی را مکانیزم اصلی در گونه زرشک اروپایی *B. Vulgaris* ذکر کرده‌اند (Peterson, 2003).

دانستن چگونگی فرایند گرده‌افشانی، تشکیل میوه و تولید بذر و گیاهچه در مدیریت تولید و اصلاح درختان نقش بسزایی دارد. شروع یک کار اصلاحی و انجام دوره‌گیری، اطلاعات اولیه و تکنیک‌هایی در زمینه گرده‌افشانی، نگهداری و جمع‌آوری دانه‌گرده، امکان بذرگیری و میزان جوانه‌زنی بذور و پرورش دانه‌ها مورد نیاز است (Hancock, 2008).

Ebadi et al. (2010) در پژوهشی به روی مکانیزم بی‌دانه‌گی زرشک‌های بی‌دانه ایرانی مشخص کردند که علت اصلی تشکیل نشدن دانه در زرشک بی‌دانه فرایند خودناسازگاری از نوع گامتوفیتیک است و پارتنوکاری تحریکی عامل تشکیل میوه در این گونه است (Ebadi et al., 2010). در این پژوهش تیمارهای مختلف گرده‌افشانی مصنوعی با مخلوط دانه‌گرده زرشک‌های دانه‌دار وحشی از چندین گونه بر روی تشکیل میوه‌های دانه‌دار در زرشک بی‌دانه بررسی شد ولی اثر دانه‌گرده ژنوتیپ‌ها به تنهایی مشخص نشد. در ضمن تأثیرات دانه‌گرده زرشک بی‌دانه به روی ارقام دانه‌دار وحشی مشخص نشد. Heidari et al. (2010) نیز تیمارهای گرده‌افشانی مزرعه‌ای به روی زرشک‌های دانه‌دار و بی‌دانه اعمال کردند (Heidari et al., 2010). نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که ژنوتیپ زرشک دانه‌دار از گونه *B. integerrima* و زرشک بی‌دانه ایرانی هر دو، در تیمار خود گرده‌افشانی هیچ میوه دانه‌داری تشکیل نمی‌دهند و در دیگر گرده‌افشانی دستی با دانه‌گرده ژنوتیپ دانه‌دار، زرشک بی‌دانه به نسبت کمتری از گونه

دانه و میوه دانه‌دار با فرمول‌های زیر محاسبه و آنالیز شدند.

$$\begin{aligned} &= \text{درصد تشکیل میوه} \\ &= 100 \times (\text{تعداد گل اولیه} / \text{تعداد میوه بی دانه و دانه‌دار تشکیل شده}) \\ &= \text{درصد تشکیل میوه دانه‌دار} \\ &= 100 \times (\text{تعداد گل اولیه} / \text{تعداد میوه دانه‌دار}) \\ &= 100 \times (\text{تعداد گل اولیه} / \text{تعداد دانه}) = \text{درصد تشکیل دانه} \end{aligned}$$

داده‌ها با نرم‌افزار SAS آنالیز شد و از آزمون LSD برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد.

تعیین جوانه‌زنی دانه‌گرده در شرایط درون‌شیشه‌ای
درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در زرشک بی دانه بررسی شد. دانه‌های گرده با استفاده از محلول آن پنتان از گل‌های کامل باز شده زرشک جمع‌آوری شد. درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در محیط کشت حاوی ساکاروز ۲۰ درصد، آگار ۱ درصد، اسید بوریک ۰/۱ درصد، نیترات پتاسیم ۰/۱ درصد، نیترات کلسیم ۰/۰۳ درصد، سولفات منیزیم ۰/۰۲ درصد ارزیابی شد. محیط کشت یاد شده با یک آزمایش اولیه بهینه‌سازی شده بود. درصد جوانه‌زنی در زیر استریومیکروسکوپ با شمارش دانه‌های گرده جوانه‌زده و تعیین نسبت آن به کل دانه‌های گرده در سه پتری دیش (چهار ناحیه از هر پتری دیش) در ۱۲ ساعت پس از کشت محاسبه شد.

بررسی درصد بقای دانه‌های حاصل از بذور هیبرید
بذور میوه‌های دانه‌دار حاصل از تلاقی‌های مختلف پس از داده‌برداری، از بافت گوشتی میوه جدا شده، خشک و در پاکت‌های کاغذی در یک محیط نسبتاً سرد و خشک انبار شدند. بذور هیبرید با استفاده از نتایج آزمایش‌های مربوط به جوانه‌زنی دانه ژنوتیپ‌های وحشی زرشک (Rezaei & Balandari, 2013) به مدت ۱۲ ساعت در محلول ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلین خیسانده و سپس در کیسه‌های پلاستیکی حاوی پرلیت مخصوص قرار داده شدند و به مدت ۴۵ روز در دمای ۴ درجه قرار داده شدند. طی این مدت بذور به‌طور مرتب بازدید شدند، رطوبت آن کنترل و در صورت مشاهده بذور جوانه‌زده به سینی‌های نشا یا جعبه‌های کشت انتقال داده می‌شدند. ابتدا در شهریور

پارک علم و فناوری مشهد استفاده شد نام‌گذاری ژنوتیپ‌ها براساس مقاله Rezaei et al. (2009) انجام شده است. گرده‌ها با استفاده از روش محلول آن پنتان جمع‌آوری شدند (Cadic, 1992). در این روش گل‌های باز شده در محلول آن پنتان قرار می‌گیرند و دانه‌گرده به دلیل از دست دادن چسبندگی از بساک‌ها جدا و در محلول آن پنتان غوطه‌ور می‌شود و پس از عبور از یک صافی و حذف مواد زائد، محلول باقی‌مانده به روی پتری دیش در دمای اتاق تبخیر می‌شود. دانه‌گرده در کف پتری دیش باقی می‌ماند. دانه‌های گرده با یک قلم‌موی ریز گرده‌افشانی روی زرشک‌های بی دانه باغی انجام شد. سپس شاخه و گل‌ها علامت‌گذاری و بدون اینکه پوشیده شوند به حال خود رها شدند. در نهایت اوایل مهرماه داده‌برداری انجام شد. آزمایش براساس یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. برای هر تیمار سه درختچه (تکرار) و از هر درختچه سه شاخه که حاوی حداقل چهار گل‌آذین بودند استفاده شدند.

تلاقی زرشک بی دانه باغی با ژنوتیپ‌های وحشی زرشک
علاوه بر تلاقی زرشک‌های وحشی با زرشک بی دانه باغی در سال ۱۳۹۱ یک سری تلاقی‌های برگشتی نیز با استفاده از دانه‌گرده زرشک بی دانه به روی ژنوتیپ‌هایی از زرشک‌های وحشی براساس یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. برای این منظور ابتدا سه گل‌آذین از سه شاخه انتخابی از سه درختچه از سه ژنوتیپ وحشی^۱ زرشک موجود در کلکسیون زرشک پارک علم و فناوری مشهد (R2N1، R4N1 و R5N1) اخته شدند و سپس با کیسه‌های سلفونی پوشانده و پس از طی یک روز از عملیات اخته‌کردن و پذیراشدن گل‌ها برای دریافت دانه‌گرده (Ebadi et al., 2010)، گرده‌افشانی مصنوعی گل‌ها با استفاده از دانه‌گرده زرشک‌های بی دانه انجام پذیرفت و سپس گل‌آذین گرده‌افشانی شده با پوشش سلفونی پوشانیده شد. در نهایت اوایل مهرماه داده‌برداری انجام شد.

صفات اندازه‌گیری شده شامل درصد تشکیل میوه،

۱. ژنوتیپ R9N3 به دلیل اینکه گل‌های آن قبل از زرشک بی دانه به‌طور کامل باز شده بودند و دیگر امکان اخته کردن گل‌های آن وجود نداشت.

سال ۱۳۹۱ (بذور حاصل از تلاقی سال ۱۳۸۹) از دو روش جعبه کشت با بستر خاکی در کف و ۵ سانتی متر مخلوط پرلیت و پیت ماس (۱:۱) و سینی کشت با اندازه ۵ در ۵ و عمق ۱۵ سانتی متر با مخلوط پرلیت و پیت ماس (۱:۱) استفاده شود. نهال‌ها در مرحله چهاربرگی به گلدان‌های پلاستیکی با بستر مخلوط خاک، خاکبرگ و کمی پرلیت منتقل شدند. درصد بقای نهال‌ها ارزیابی شد. در فروردین سال ۱۳۹۲ بذور (بذور حاصل از تلاقی ۱۳۹۱) پس از تیمار جوانه‌زنی (بذور حاصل از تلاقی سال ۱۳۹۱) در سینی کاشت حاوی کوکوپیت و کمی پرلیت در زیر سیستم میست قرار داده شدند و درصد جوانه‌زنی و بقای نهال‌ها در آن‌ها ارزیابی شد.

نتایج و بحث

تاریخ شروع گلدهی در سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۱ از حدود هفته دوم اردیبهشت‌ماه آغاز و در هفته سوم اردیبهشت‌ماه درختچه‌ها در مرحله تمام‌گل بودند و در هفته چهارم اردیبهشت ریزش کل گلبرگ‌ها اتفاق افتاد. از شروع گلدهی تا پایان آن بیش از ۲۰ روز طول کشید. ابتدا گلدهی گل‌های ردیف اول خوشه‌ها باز شد و تا باز شدن آخرین گل در یک خوشه بیش از هفت روز زمان برد. در سال ۱۳۹۰ تاریخ شروع گلدهی، تمام‌گل بیش از یک هفته زودتر صورت گرفت.

داده‌های آزمایش تلاقی ژنوتیپ‌های وحشی زرشک با زرشک بی‌دانه باغی که در سال ۱۳۹۰ انجام شد به دلیل از بین رفتن بیشتر گل‌ها و تیمارهای صورت گرفته مد نظر قرار نگرفت. این آزمایش کمی دیرتر از موعد مقرر صورت پذیرفت (خطای شخصی). در نیمه اردیبهشت گل‌های ژنوتیپ‌های دانه‌دار زرشک چندان مناسب گرده‌گیری نبودند و در زرشک باغی گل‌های ابتدایی خوشه‌ها، گلبرگ‌ها ریزش یافته بود یعنی لقاح صورت گرفته بود و میوه در حال تشکیل بود. در تابستان نیز به دلایلی درصد بالایی از گل‌ها ریزش کرده بودند. مثلاً در یک تیمار از هشت خوشه گرده‌افشانی شده تنها یکی باقی ماند و مابقی ریزش کرده بودند. گرمی هوا در تابستان و کم‌آبی می‌تواند علت ریزش محسوب شود. دلایلی همچون ریزش بر اثر تنش اخته‌کردن، ریزش گل‌ها بر اثر قرار گرفتن تعداد زیاد دانه‌گرده به روی کلاله و گرده‌افشانی دیرنگام را می‌توان

ذکر کرد. قابل توجه اینکه در آن سال میزان محصول باغ تجاری زرشک بی‌دانه که در پارک وجود داشت بسیار کاهش یافته بود و بسیاری از خوشه‌ها درحالی‌که میوه به روی آن‌ها تا حدودی رشد کرده بود کاملاً خشک شده بودند این پدیده احتمالاً بر اثر تنش شدید حرارتی یا بی‌آبی در اواسط تابستان رخ داده باشد. براساس مشاهدات میزان ریزش میوه و خوشه‌های خشک‌شده در باغ زرشک واقع در پارک علم و فناوری در سال‌های ۱۳۸۹، ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ بسیار زیاد بود. تا کنون گزارشی در مورد درصد تشکیل میوه زرشک باغی در منطقه قائنات ارائه نشده است. ولی آنچه به‌طور عینی مشاهده شده این است که زرشک باغی که در منطقه بیرجند و قائن کشت می‌شود ریزش گل و میوه چندان ندارد ولی Heidari *et al.* (2010) در پژوهشی که در باغ پارک علم و فناوری مشهد انجام داد نیز درصد تشکیل میوه زرشک باغی ناشی از گرده‌افشانی باز ۴۶ درصد اعلام کردند. دلایل متعددی از جمله عدم سازگاری زرشک باغی با این منطقه، میزان و کیفیت آب، کیفیت خاک، کوددهی و شرایط محیطی قبل و بعد از گلدهی را می‌توان برای آن ذکر کرد.

نتایج گرده‌افشانی ژنوتیپ‌های زرشک دانه‌دار (R2N1 و R5N1) به روی زرشک بی‌دانه باغی در سال ۱۳۸۹ نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر درصد تشکیل میوه‌های دانه‌دار در دو ژنوتیپ وجود دارد. تعداد دانه حاصل از ژنوتیپ R5N1 از کل گل‌های گرده‌افشانی شده ۱۰۰ عدد بود که حدود ۱۵ درصد گل‌های گرده‌افشانی شده تشکیل دانه دادند درحالی‌که این مقدار برای ژنوتیپ R2N1 تنها ۳۹ دانه بود یعنی کمتر از ۳ درصد گل‌ها میوه‌های دانه‌دار تولید کردند. تنها نتایج آزمایش ۱۳۹۱ آنالیز آماری شد. نتایج آزمایش در سال ۱۳۹۱ نشان داد که تأثیرات دانه‌گرده ژنوتیپ‌های وحشی زرشک در درصد تشکیل میوه زرشک بی‌دانه باغی در سطح ۵ درصد و در درصد تشکیل دانه و درصد تشکیل میوه دانه‌دار آن در سطح یک درصد معنادارند (جدول ۱). بیشترین درصد تشکیل میوه به میزان ۶۹ درصد از دانه‌گرده ژنوتیپ R4N1 و کمترین درصد تشکیل میوه از دانه‌گرده ژنوتیپ R2N1 به میزان ۴۶ درصد به دست آمد (جدول ۲). درصد تشکیل میوه دانه‌دار و درصد تشکیل دانه نیز در

کمتری با زرشک باغی دارد و درصد تشکیل دانه و میوه در این گونه کاهش یافته است. میانگین درصد تشکیل میوه رقم سوپرنورای بادام بر اثر تیمار با گرده‌افشانی با ارقام مختلف بادام رنجی از ۱۵ تا ۵۱ درصد داشته است (Rasuli *et al.*, 2010). اما آنچه در مورد این آزمایش اهمیت دارد برطرف شدن ابهامات مربوط به تأثیرات دانه‌گرده ژنوتیپ‌های وحشی در آزمایش قبلی (Ebadi *et al.*, 2010) بر تشکیل میوه‌های دانه‌دار در زرشک باغی است. در آزمایش‌های قبلی از مخلوط دانه‌گرده ژنوتیپ‌های وحشی استفاده شده بود و در این آزمایش مشخص شد که درصد تشکیل دانه ناشی از گرده‌افشانی با دانه‌گرده ژنوتیپ‌های وحشی زرشک تفاوت قابل توجهی دارد و ژنوتیپ‌هایی که قرابت بیشتری دارند درصد تشکیل میوه و دانه آن‌ها کمتر است.

ژنوتیپ‌های R4N1 و R5N1 بیشترین و در ژنوتیپ R2N1 کمترین میزان بود (جدول ۱). در درختان میوه عامل گرده‌افشان می‌تواند در درصد تشکیل میوه تأثیر بگذارد (Rasuli *et al.*, 2010; Saghali *et al.*, 2013). تفاوت درصد تشکیل میوه در درختانی که مکانیزم‌های خودناسازگاری یا دگرناسازگاری دارند بیشتر دیده می‌شود (Rasuli *et al.*, 2010; Saghali *et al.*, 2013). علت تفاوت‌های درصد تشکیل میوه و دانه زرشک باغی حاصل از گرده‌های ژنوتیپ‌های وحشی می‌تواند مربوط به مکانیزم‌های دگرناسازگاری نسبی در این میوه باشد. براساس بررسی انجام‌شده با مارکر SSR مشخص شد که ژنوتیپ R2N1 نسبت به ژنوتیپ R4N1 قرابت بیشتری با زرشک‌های بی‌دانه باغی دارد (Rezaei *et al.*, 2011). از این‌رو احتمالاً دانه‌گرده آن سازگاری

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر دانه‌گرده ژنوتیپ‌های زرشک وحشی بر درصد تشکیل

میوه، دانه و میوه دانه‌دار در زرشک بی‌دانه باغی			
منابع تغییرات	درصد تشکیل میوه	درصد تشکیل دانه	درصد تشکیل میوه دانه‌دار
ژنوتیپ (دانه‌گرده)	۲۹۴/۷۵*	۳۱۵/۳۲**	۲۴۸/۴۲**
بلوک	۶۹/۵۴ ^{ns}	۱۵/۵۳ ^{ns}	۱۵/۱۲ ^{ns}
خطا	۵۹/۲۵	۱۰/۵۹	۱۰/۴۵
CV%	۱۳/۳۴	۲۲/۳۹	۲۵/۳۱

** معنادار در سطح یک درصد *** معنادار در سطح پنج درصد ns نبود اختلاف معنادار

جدول ۲. اثر دانه‌گرده ژنوتیپ‌های زرشک وحشی بر درصد تشکیل میوه، دانه و میوه دانه‌دار در زرشک باغی

تلاقی‌ها (کد ژنوتیپ‌ها)*	درصد تشکیل میوه	درصد تشکیل میوه دانه دار	درصد تشکیل دانه
R2N1 × BD	۴۶/۲۹b	۲/۲۲b	۲/۲۲c
R5N1 × BD	۶۰/۷۴ab	۲۰/۷۴a	۲۳/۷۰a
R4N1 × BD	۶۹/۶۳a	۲۰a	۲۲/۲۰a
R9N3 × BD	۵۴/۰۷b	۸/۱۴b	۱۰b

* R2N1 و R4N1 : ژنوتیپ از گونه *Berberis integerrima*, R5N1 : ژنوتیپ از *B. crataegina × integerrima*, R9N3 ژنوتیپ

وحشی زرشک (گونه ناشناخته) و BD: زرشک بی‌دانه باغی.

گرده‌های زرشک باغی نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها در درصد تشکیل میوه، درصد تشکیل دانه و درصد تشکیل میوه‌های دانه‌دار اختلاف معناداری در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۳). درصد تشکیل میوه در گرده‌افشانی مصنوعی در ژنوتیپ‌های R4N1 و R5N1 به ترتیب ۶۲ و ۶۰ درصد است که اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند. میزان تشکیل میوه ژنوتیپ R2N1 ۱۴ درصد بود که

نتایج بررسی جوانه‌زنی دانه‌گرده زرشک بی‌دانه نشان داد که دانه‌های گرده در ۲ ساعت پس از کاشت شروع به جوانه‌زنی کردند و پس از ۱۲ ساعت زیوایی دانه‌گرده زرشک بی‌دانه در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای حدود ۵۴ درصد بود (شکل ۱).

نتایج حاصل از گرده‌افشانی مصنوعی گل‌های اخته‌شده ژنوتیپ‌های وحشی زرشک با استفاده از

درون شیشه‌ای و کارایی دانه‌گرده زرشک بی‌دانه در شرایط طبیعی *insitu* تأیید شد (شکل ۱ و جدول ۴). تشکیل دانه در گرده‌افشانی مصنوعی گل‌های اخته‌شده ژنوتیپ‌های زرشک نشان می‌دهد که پدیده نرعی‌می در زرشک باغی وجود ندارد که تأییدکننده نتایج پژوهش‌های قبلی است (Ebadi et al. 2010).



شکل ۱. دانه‌های گرده زرشک بی‌دانه جوانه‌زده در محیط کشت مصنوعی

اختلاف معناداری با دو ژنوتیپ دیگر داشت (جدول ۴). این روند نیز در سایر صفات، درصد تشکیل میوه دانه‌دار و درصد تشکیل دانه دیده شد (جدول ۴). درصد کمی از میوه‌ها به‌ویژه در ژنوتیپ‌های R4N1 و R5N1 بی‌دانه بودند. متوسط تعداد حبه‌های تشکیل‌شده در هر خوشه در ژنوتیپ‌های R2N1، R4N1 و R5N1 در حالت گرده‌افشانی باز به ترتیب ۱۰/۸۳، ۲۰ و ۲۰/۵۶ است (Rezaei et al., 2011). میزان تشکیل میوه ژنوتیپ R2N1 به‌طور ژنتیکی کمتر از دو ژنوتیپ دیگر است و این می‌تواند هنگام گرده‌افشانی با دانه‌گرده زرشک باغی نیز اتفاق بیفتد با این وجود این امکان هم وجود دارد که میزان کمتر تشکیل میوه به دلیل دگرناسازگاری نیز باشد اما درصد تشکیل میوه بی‌دانه در گرده‌افشانی با دانه‌گرده زرشک بی‌دانه بسیار کم بود (جدول ۲). اما آنچه در این پژوهش شایان توجه و بااهمیت است مشخص‌شدن زنده‌بودن و کارایی دانه‌گرده زرشک باغی در تشکیل دانه در ژنوتیپ‌های مختلف زرشک است. زنده‌بودن و کارایی دانه‌گرده زرشک بی‌دانه با تست جوانه‌زنی در شرایط

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر دانه‌گرده زرشک بی‌دانه باغی برای درصد تشکیل

میوه، دانه و میوه دانه‌دار در ژنوتیپ‌های زرشک وحشی

منابع تغییرات	درصد تشکیل میوه	درصد تشکیل دانه	درصد تشکیل میوه دانه‌دار
ژنوتیپ (گرده‌افشان)	۱۸۰۷/۵۲***	۲۷۵۱/۸۸***	۹۸۸/۷۹***
بلوک	۴/۷۷ns	۵۱/۰۵ ns	۶۶/۴۸ ns
خطا	۸۷/۹۷	۸۸/۵۲	۲۶/۸۱
CV%	۲۶/۹۹	۲۲/۳۹	۱۹/۱۲

***: معنادار در سطح ۰/۰۰۱ ns: نبود اختلاف معنادار.

جدول ۴. اثر دانه‌گرده زرشک بی‌دانه باغی بر درصد تشکیل میوه، دانه و میوه دانه‌دار در ژنوتیپ‌های زرشک وحشی

تلاقی‌ها (کد ژنوتیپ‌ها)*	درصد تشکیل میوه	درصد تشکیل میوه دانه‌دار	درصد تشکیل دانه
BD × R2N1	۱۳/۹۳b	۱۲/۱۲b	۱۵/۷۵b
BD × R5N1	۶۰a	۳۵ab	۵۵ab
BD × R4N1	۶۱/۸۱a	۴۷/۲۷a	۷۵/۱۵a

*: R4N1 و R2N1: ژنوتیپ از گونه *Berberis integerrima* R5N1: ژنوتیپ از *B. crataegina* × *integerrima* و BD: زرشک بی‌دانه باغی.

۱۵۰ دانه کشت‌شده در این سال تنها ۱۰ گیاهچه به گلدان انتقال داده شدند. بیشتر بذور جوانه‌زده در جعبه نشا قبل از بیرون آمدن برگ‌های حقیقی از بین رفتند. گیاهچه‌هایی که چهار تا پنج برگ حقیقی داشتند قدرت

بذور کشت‌شده در سینی و جعبه کشت از نظر جوانه‌زنی با هم تفاوت چندانی نداشتند ولی برای انتقال، بذور کشت‌شده در سینی‌ها بهتر بودند. مشکل اصلی رشد دانه‌ها بیماری مرگ گیاهچه (Damping off) بود. از

کشت حاوی کوکوپیت به همراه کمی پرلیت کشت شد. سینی‌های کشت در زیر سیستم میست قرار داده شده و هر چهار ساعت در روز به مدت ۱۵ دقیقه آبیاری شدند. همانند آزمایش قبلی درصد بالایی از بذور جوانه زدند (شکل ۲ و جدول ۵) ولی برخلاف نتایج آزمایش سال قبل، درصد زیادی از گیاهچه‌ها زنده ماندند و پس از رسیدن به مرحله چهار تا پنج برگی با موفقیت به گلدان‌های با قطر ۱۰ سانتی‌متری و سپس به گلدان‌های ۲۰ سانتی‌متری انتقال داده شدند (شکل ۳).

بقای بیشتری هنگام انتقال از خودشان نشان دادند. دانه‌های باقی‌مانده در این مرحله به گلدان‌های با قطر ۲۰ سانتی‌متر انتقال داده شدند. چون زمان انتقال آبان‌ماه بود، با اینکه گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای بودند رشد چندانی نداشتند. برگ‌های پایینی در بیشتر مواقع زرد و خشک شدند اما برگ‌های تازه دوباره شروع به رشد کردند. دانه‌های حاصل از تلاقی‌های زرشک‌های وحشی و زرشک بی‌دانه در سال ۱۳۹۱ پس از تیمار با جیبرلین و ۴۵ روز سرمادهی در فروردین ۱۳۹۲ در سینی‌های

جدول ۵. درصد جوانه‌زنی بذور و درصد بقای گیاهچه از تلاقی‌های رفت و برگشتی

زرشک بی‌دانه با ژنوتیپ‌های وحشی زرشک

تلاقی * ♀ × ♂	درصد جوانه‌زنی	درصد بقای گیاهچه‌ها پس از جوانه‌زنی
R2N1 × BD	-	-
R5N1 × BD	۳۸/۰۹	۵۰
R4N1 × BD	۶۳/۱۵	۵۸/۳۳
R9N3 × BD	۴۲/۱۰	۶۲/۵۰
BD × R2N1	۸۰	۵۹
BD × R5N1	۶۸/۹۶	۹۲/۵۰
BD × R4N1	۸۴/۶۷	۵۷/۱۴

* R2N1 و R4N1: ژنوتیپ از گونه *Berberis integerrima*; R5N1: ژنوتیپ از *B. crataegina × integerrima*; R9N3: ژنوتیپ وحشی زرشک (گونه ناشناخته) و BD: زرشک بی‌دانه باغی.



شکل ۲. دانه‌های زرشک حاصل از تلاقی BD × R5N1* در گلدان‌های با قطر ۲۰ سانتی‌متری، مردادماه ۱۳۹۲

* R5N1: ژنوتیپ از *B. crataegina × integerrima* و BD: زرشک بی‌دانه باغی



شکل ۳. بذور جوانه‌زده در سینی‌های کشت در بستر کوکوپیت + پرلیت. بذور حاصل از تلاقی BD × R5N1*

* R5N1: ژنوتیپ از *B. crataegina × integerrima* و BD: زرشک بی‌دانه باغی

بذور نباید از بستر خاکی استفاده کرد و بستر کوکوپیت مخلوط با کمی پرلایت در زیر سیستم میست سبب افزایش درصد بقای گیاهچه می‌شود. زمان کشت بذور در درصد بقای آن اهمیت ویژه‌ای دارد به نظر می‌رسد که بهترین زمان در کاشت بذور حتی در شرایط گلخانه‌ای، اوایل فصل بهار است.

نتیجه‌گیری کلی

زرشک بی‌دانه یک محصول استراتژیک مخصوصاً در منطقه خراسان جنوبی است. نتایج این پژوهش می‌تواند در تدوین و اجرای یک برنامه اصلاحی مدون ملی در انتخاب والدین، چگونگی عملیات مزرعه‌ای گرده‌افشانی و تکنیک‌های تولید دانهال بسیار ارزنده باشد. نتایج این پژوهش مشخص کرد که قابلیت باروری دانه‌گرده ژنوتیپ‌های وحشی زرشک بسیار متفاوت است و ژنوتیپ‌هایی که قرابت بیشتری دارند درصد تشکیل میوه و دانه آن‌ها کمتر است. با توجه به تشکیل دانه هنگام گرده‌افشانی با دانه‌گرده زرشک بی‌دانه باغی در ژنوتیپ‌های وحشی زرشک، پدیده نرعیمی در زرشک باغی وجود ندارد.

تکنیک‌هایی تلاقی و ارزیابی در کارهای اصلاحی اهمیت ویژه‌ای دارند. این تکنیک در کاهش هزینه‌های برنامه‌های اصلاحی و عدم اتلاف زمان می‌تواند بسیار تعیین‌کننده باشند. در گیاهان باغی مختلف با توجه به سابقه کارهای اصلاحی اغلب تکنیک‌های تولید دانهال به‌دقت شرح داده شده است (Hancock, 2008). اگرچه هر برنامه اصلاحی براساس نتایج پژوهش‌ها و روش‌های تشریح‌شدن قبلی، روش و تکنیک خاص خودش را اجرا می‌کند که منطبق بر ویژگی‌های مکانی و آب و هوای حاکم بر آن منطقه و همچنین ژرم‌پلاسم آن‌هاست (Hall, 1990; Clark et al., 2008). در مورد زرشک به‌دلیل روش تکثیر آن از طریق پاجوش هیچ‌گونه اطلاعاتی در مورد چگونگی پرورش نهال‌ها وجود ندارد و نتایج این پژوهش می‌تواند در کاهش هزینه و کاهش اتلاف زمان بسیار مفید باشد.

نتایج این بررسی نشان‌دهنده این مطلب است که بستر کشت و نوع سیستم کشتی در درصد بقای گیاهچه‌ها اهمیت ویژه‌ای دارد. استفاده از سینی‌های کشتی به‌دلیل جابه‌جایی کمتر خاک اطراف ریشه‌ها از جعبه‌های کشت عملکرد بهتری دارند. هنگام جوانه‌زنی

REFERENCES

1. Alemardan, A., Asadi, W., Rezaei, M., Tabrizi, L. & Mohammadi, S. (2013). Cultivation of Iranian seedless barberry (*Berberis integerrima* 'Bidaneh'): A medicinal shrub. *Industrial Crops and Products*, 50, 276-287.
2. Anderson, G.J., Bernardello, G., Stuessy, T.F. & Crawford, D.J. (2001). Breeding system and pollination of selected plants endemic to Juan Fernandez Islands. *American Journal of Botany*, 88, 220-233.
3. Arayne, M., Sultana, N. & Bahadur, S. (2007). The berberis story: *Berberis vulgaris* in therapeutics. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20, 83-92.
4. Cadic, A. (1992). Breeding for ever-red barberries (*Berberis* spp.). *Acta Horticulturae*, 320, 85-90.
5. Clark, J.R. & Finn, C.E. (2008). Trends in blackberry breeding. *Acta Horticulturae*, 777, 41-48.
6. Ebadi, A., Rezaei, M. & Fatahi, R. (2010). Mechanism of seedlessness in Iranian seedless barberry (*Berberis vulgaris* L. var. *asperma*). *Scientia Horticulturae*, 125, 486-493.
7. Hancock, J.F. (2008). Temperate fruit crop breeding: germplasm to genomics. *Heidelberg: Springer*.
8. Hall, H.K. (1990). Blackberry breeding. *Plant Breed Review*, 8, 249-312.
9. Heidari, S., Marashi, H. & Farsi, M. (2009). Assessment of genetic structure and variation of native *Berberis* populations of Khorasan provinces (Iran) using AFLP markers versus morphological markers. *Iranian Journal of Biotechnology*, 7, 101-107.
10. Heidari, S., Marashi, H., Mollafilabi, A., Balandari, A. & Azizi, M. (2010). Cytogenetic and Pollination Studies in Seedless Barberry (*Berberidaceae*) and its Relative Species in Eastern Iran. 28th *International Horticultural Congress* 8-22. (in Farsi)
11. Peterson Jr, P.D. (2003). *The common barberry: the past and present situation in Minnesota and the risk of wheat stem rust epidemics USA*. (Ph.D. thesis).
12. Rasuli, M., Fatahi, R., Zamani, Z., Imani, A. & Ebadi, A. (2010). A Study of the Compatibility and the Effects of Supplementary Pollination with Different Pollens on Fruit Set of Self-Compatible Almond 'Supernova'. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, 40, 61-71. (in Farsi)

13. Rezaei, M. & Balandari, A. (2013). Effects of gibberellic acid (GA3), stratification and acid scarification on the seed germination of three Iranian barberry genotypes. *Seed Science and Technology Journal*. In press. (in Farsi)
14. Rezaei, M., Ebadi, A., Fatahi, R. & Balandari, A. (2009). Morphological study of Barberry genotype (*Berberis* sp) in Khorasan province. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 39, 623-636. (in Farsi)
15. Rezaei, M., Ebadi, A., Reim, S., Fatahi, R., Balandary, A., Farrokhi, N. & Hanke, M.-V. (2011). Molecular analysis of Iranian seedless barberries via SSR. *Scientia Horticulturae*, 129, 702-709.
16. Saghali, T., Talaei, A. & Imani, A. (2013). A Study of Self and Cross-Compatibility in Some Commercial Cultivars of Peach in Karaj Climatic Conditions. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, 44, 95-107. (in Farsi)
17. Sodagar, N., Bahrami, A., Memariani, F., Ejtehadi, H., Vaezi, J. & Khosravi, A. (2012). Biosystematic study of the genus *Berberis* L. (Berberidaceae) in Khorassan, NE Iran. *Plant Systematic Evolution*, 298, 193-203.
18. Tehranifar, A. (2002). Barberry growing in Iran. *XXVI International Horticultural Congress*, 620, 193-195.
19. Tiwari, U.L., Adhikari, B.S. & Rawat, G.S. (2012). A checklist of Berberidaceae in Uttarakhand, Western Himalaya, *India. Check List*, 8, 610-616.
20. Kafi, M., Balandary, A., Rashed-Mohasel, M.H., Koochaki, A. & Molafilabi, A. (2002). *Berberis*: Production and Processing. *Zaban va adab Press, Iran*, pp. 1-209. (in Farsi)