

بررسی سازگاری گرده برخی از رقم‌ها و ژنوتیپ‌های امیدبخش انتخابی بادام

مهدی فلاح^۱، موسی رسولی^{۲*}، یاور شرفی^۳ و علی ایمانی^۴

۱ و ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران

۲. استادیار، گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر

۴. دانشیار، بخش تحقیقات باغبانی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱/۳۱)

چکیده

بادام (*Prunus dulcis* L.) یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنس پرونوس است که بیشتر رقم‌ها و نژادگان‌های آن خودناسازگار و برخی نیز دگر ناسازگارند. هرچند امروزه رقم‌های خودسازگار ایجاد شده از طریق بهنژادی در دسترس است. بنابراین رقم‌های خودناسازگار برای گرده‌افشانی، تلقیح و تولید نیازمند دانه گرده سازگار دیگر رقم‌ها هستند. در این راستا بررسی سازگاری گرده‌افشانی سه رقم تونو، شکوفه، سهند و پنج نژادگان امیدبخش انتخابی $A_{1.16}$ ، $A_{9.7}$ ، $A_{8.39}$ ، $A_{10.11}$ ، A_{230} با استفاده از روش گرده‌افشانی کنترل شده انجام شد. ترکیب‌های تلاقی‌ها بر پایه همپوشانی گلدهی در سه گروه انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد که ترکیب تلاقی $A_{9.7} \times$ تونو (با ۶۰/۵۲ درصد تشکیل میوه)، $A_{10.11} \times A_{9.7}$ (با ۷۹/۲۰ درصد تشکیل میوه) و سهند \times شکوفه (با ۷۷/۲۵ درصد تشکیل میوه) بالاترین درصد تشکیل میوه و بیشترین سازگاری در تلاقی‌های به کار رفته در گروه‌های مختلف را داشتند. همچنین ترکیب تلاقی‌های $A_{230} \times$ تونو (با ۴۲/۴۵ درصد تشکیل میوه) و سهند \times تونو (با ۳۹/۵۲ درصد تشکیل میوه) ۵۰ درصد ناسازگاری نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: بادام، تشکیل میوه، سازگاری، گرده‌افشانی کنترل شده، گرده‌زا.

Study of pollen compatibility relationships among some selected promising almond cultivars and genotypes

Mehdi Fallah¹, Mousa Rasouli^{2*}, Yavar Sharafi¹ and Ali Imani³

1, 3. M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Horticulture and Landscape engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

4. Associate Professor, Horticultural Departments of Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Iran

(Received: Jan. 26, 2015 - Accepted: Apr. 20, 2015)

ABSTRACT

Almond is one of the most important *Prunus* species. Most almond cultivars and genotypes are self-incompatible and some others are cross-incompatible. However, recently self-incompatible cultivars developed by breeding are available. Therefore self-incompatible cultivars for pollination, fertilization and production require compatible pollen of other cultivars. In this regard the study of pollen and pistil compatibility of the three cultivars of 'Tuono', 'Shokofeh', 'Sahand' and promising five selected genotypes of $A_{1.16}$, $A_{9.7}$, $A_{8.39}$, $A_{10.11}$ and A_{230} was made using method controlled pollination and determined the fruit set percentage in the field. Crosses were performed based on flowering overlap among the three groups. Results showed that crosses of Tuono \times $A_{9.7}$ (60.52 % fruit set), $A_{9.7} \times A_{10.11}$ (79.20% fruit set) and Shokofeh \times Sahand (77.52 % fruit set) had the highest of fruit set percentage and maximum compatibility on crosses were used in mentioned groups. Furthermore crosses of Tuono \times A_{230} (42.45 % fruit set) and Tuono \times Sahand (39.52 % fruit set) showed 50 percent incompatibility.

Keywords: almond, compatibility, controlled pollination, fruit set, pollinizer.

مقدمه

بادام (*Prunus dulcis*) یکی از مهم‌ترین میوه‌های خشک مناطق معتدله بوده که به دلیل آسانی در برداشت محصول، حمل‌ونقل آسان، سازگاری به خاک‌های آهکی و مناطق نیمه‌خشک و ارزش غذایی بالا از نظر اقتصادی اهمیت فراوانی دارد. بیشتر رقم‌های آن خودناسازگار هستند و برای تولید میوه تجاری نیاز به گرده‌افشانی با دانه گرده مناسب و سازگار دارند، بنابراین تعیین سازگاری رقم‌ها پیش از احداث باغ اهمیت بالایی در تولید بادام دارد (Imani & Talaie, 1998; Socias i Company, 1990). انتخاب گرده‌زاهای سازگار با رقم اصلی می‌تواند در تولید محصولی با کمیّت و کیفیت بالا مؤثر باشد (Kester et al., 1994). خود ناسازگاری در بادام از دیدگاه میوه‌کاری نوین، یک ویژگی بازدارنده شناخته می‌شود که چالش‌هایی در مدیریت باغ، ایجاد نوسان باردهی و غیریکنواختی محصول را به همراه دارد. بنابراین، برای انتخاب بهترین گرده‌زا در یک رقم یا نژادگان خاص، انجام گرده‌افشانی کنترل‌شده در شرایط باغی و محاسبه درصد میوه‌بندی، به‌عنوان یک روش متداول برای ارزیابی سازگاری گرده استفاده می‌شود (Socias i Compan & Felipe, 1987). خود ناسازگاری موجود در رقم‌های مختلف بادام و گونه‌های دیگر جنس پرونوس از نوع گامتوفیتیک است (Dicenta et al., 1993) و هم‌ردیف (آلل)‌های ژنی ناسازگاری این جنس دو اینترون دارند (Martinez Gomez et al., 2003). سامانه ناسازگاری گامتوفیتیک به‌وسیله یک مکان ژنی بنام S در مادگی و مکان ژنی SF در دانه گرده کنترل می‌شود. در این سامانه هم‌ردیف‌های خود ناسازگاری که در خامه بیان می‌شوند، ریبونوکلئازهایی (S-RNases) تولید می‌کنند که به‌طور اختصاصی رشد لوله گرده با ژنوتیپ (نژادگان) همسان در مکان S را متوقف می‌کنند (Tabebayashi et al., 2003). همچنین، در رقم‌های بادام دگر ناسازگاری نیز وجود دارد (Socias & Alonso, 2004). شناخت کافی سازگاری بین گرده و مادگی رقم‌های مختلف درختان میوه یکی از جنبه‌های بسیار مهم در باردهی است که از دیدگاه میوه‌کاری در گزینش درختان گرده‌زای مناسب برای رقم‌های جدیدی که از برنامه‌های اصلاحی معرفی می‌شوند، اهمیت ویژه‌ای دارد

(Dicenta et al., 2002). محققان نشان دادند خود ناسازگاری در بادام در نتیجه نداشتن فعالیت ریبونوکلئاز در بافت خامه بوده و درباره منشأ رقم‌های خودسازگار بادام بیان کردند که به‌احتمال رقم‌های خودسازگار از جهش (موتاسیون) یا دورگ‌گیری طبیعی با گونه وحشی (*Prunus webbii*) به وجود آمده‌اند (Boskovic et al., 1999). رقم‌های شناخته‌شده خودسازگار بادام در مکان ژنی S ناخالص (هتروزیگوت) هستند (S_xS_y) هرچند که رقم‌های خودسازگار خالص (هموزیگوت) (S_yS_y) نیز امروزه توسط برنامه‌های اصلاحی به دست آمده‌اند (Dicenta et al., 2002). پژوهشگران برای شناخت از سازگاری دانه گرده با مادگی از روش‌های مختلفی مانند گرده‌افشانی کنترل‌شده در مزرعه و محاسبه درصد تشکیل میوه، تلاقی کنترل‌شده و سپس ردیابی رشد لوله گرده با میکروسکوپ فلورسنت، الکتروفورز پروتئین‌های خامه و PCR اختصاصی هم‌ردیف S استفاده کرده‌اند (Boskovic et al., 1997; Ortega et al., 2002; Martinez-Gomez et al., 2003; Sanchez-Perez et al., 2004). متداول‌ترین روش، گرده‌افشانی کنترل‌شده در باغ و محاسبه درصد تشکیل میوه در چند هفته پس از گرده‌افشانی بوده که به‌عنوان یک روش متداول برای ارزیابی سازگاری دانه گرده و مادگی استفاده می‌شود. بررسی تأثیر گرده‌افشانی دانه گرده رقم‌های شاهرود ۲۱، شاهرود ۱۲، فراجیلو، ۱۰-۴، ۵-۱۱ و سوپرنوآ روی پایه مادری رقم خودسازگار سوپرنوآ نشان داد همه رقم‌های موردبررسی با رقم سوپرنوآ سازگار بودند. همچنین، از نظر درصد تشکیل میوه بین نوع دانه گرده در مرحله ۴۶ روز پس از گلدهی و مرحله ۱۰۳ روز پس از گلدهی تفاوت معنی‌دار وجود داشت. گل‌های گرده‌افشانی‌شده رقم سوپرنوآ با گرده رقم شاهرود ۲۱ بیشترین درصد و گل‌های خود گرده‌افشانی‌شده رقم سوپرنوآ کمترین درصد تشکیل میوه را داشتند (Rasouli et al., 2009; Rasouli & Imani, 2016). کاربرد رقم‌ها و نژادگان‌های گرده‌دهنده مناسب و سازگار در باغ‌های بادام باعث افزایش عملکرد می‌شود و با توجه به زمان گلدهی، طول مدت گلدهی و توانایی تلقیح با روش‌های باغی و آزمایشگاهی می‌توان اقدام به شناسایی بهترین گرده‌دهنده و گرده‌گیرنده برای کشت در باغ کرد.

نحوه تهیه دانه گرده

به‌منظور تهیه و گردآوری دانه گرده، پیش از باز شدن گل‌ها، اقدام به قطع شاخه‌هایی که جوانه گل کافی داشتند، شد و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند. شاخه‌های رقم‌های انتخاب‌شده در ظرف‌های ۵ لیتری محتوی آب و ساکارز (۴ درصد) تا ارتفاع ۱۵ سانتی‌متری قرار گرفته و در دمای معمولی آزمایشگاه (۱۷-۲۵ °C) با رعایت فاصله مناسب از یکدیگر قرار گرفت. برای نفوذ بهتر آب به آوندهای شاخه‌ها و جلوگیری از انسداد آوندها آب ظرف‌ها به‌طور روزانه تعویض شد و هر دو روز یک بار انتهای شاخه‌ها به‌طور مورب در حد ۳-۵ سانتی‌متر دوباره برش داده می‌شد. گل‌ها پس از چند روز (۳-۵) و نزدیک به مرحله شکوفایی برای گرده‌گیری آماده شدند. پرچم‌های گل‌ها با دست یا قیچی کوچک و پنس جدا شده و یا با مالش با دست گردآوری شده و به مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت برای خشک شدن در دمای ۲۲°C روی کاغذهای سفون و در محل تاریک قرار گرفتند. سپس دانه‌های گرده به ویال‌های کوچک شیشه‌ای انتقال یافته و در دمای ۴ درجه سلسیوس تا انجام عمل گرده‌افشانی نگهداری شدند (شکل ۱) (Rasouli *et al.*, 2009).

بررسی جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط آزمایشگاه

برای اطمینان از توان جوانه‌زنی دانه‌های گرده گردآوری‌شده اقدام به کشت دانه گرده در محیط کشت جامد شد. بدین منظور از محیط کشت جامد حاوی ۱۵ درصد ساکاروز، ۱ درصد آگار و ۲۰ پی‌پی‌ام اسیدبوریک استفاده شد. پس از کشت دانه‌های گرده ظرف‌های کشت به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. پس از شش ساعت، دانه‌های گرده کشت‌شده با بینوکولر (۱۰X) بررسی، عکس‌برداری (شکل ۲) و شمارش شدند (جدول ۵) و سپس درصد جوانه‌زنی آن‌ها تعیین شد (Imani & Talaie, 1998; Rasouli & Imani, 2016).

گرده‌افشانی کنترل‌شده گل‌های انتخاب‌شده

برای گرده‌افشانی با گرده موردنظر و با توجه به زمان باز شدن گل‌های هر شاخه با برداشتن کیسه‌ها، در هر شاخه شمار لازم گل حفظ و دیگر گل‌ها شامل

تحقیقات نشان داده است بین زمان گلدهی رقم‌ها و میزان تولید محصول همبستگی وجود دارد (Dorostkar *et al.*, 2005). بنابراین هرچه همپوشانی گلدهی بین رقم‌های گرده‌دهنده و گرده‌گیرنده بیشتر باشد امکان تولید محصول بیشتری فراهم می‌شود. در رقم‌ها و نژادگان‌های ناشناخته که برای احداث باغ‌های بادام به کار می‌روند بررسی روابط سازگاری از مهم‌ترین اقدام‌های باغی به‌شمار می‌آید.

هدف از انجام این تحقیق بررسی روابط سازگاری دانه گرده و مادگی برخی رقم‌ها و نژادگان‌های بادام با روش گرده‌افشانی کنترل‌شده در باغ برای انتخاب بهترین گرده‌زها و توصیه‌های لازم برای احداث باغ و برنامه‌های اصلاحی بود.

مواد و روش‌ها

انتخاب رقم‌های گرده‌زا

پس از بررسی‌های لازم و با در نظر گرفتن کیفیت محصول، وزن میوه، همزمانی از نظر گلدهی و رعایت دیگر موارد رقم‌ها و نژادگان‌هایی که به‌عنوان گرده‌زا و گرده‌گیرنده بودند در سه گروه قرار گرفتند. گروه یک شامل نژادگان A_{9.7} به‌عنوان گرده‌گیرنده و نژادگان‌های A_{8.39}، A_{10.11}، A₂₃₀ و رقم تونو به‌عنوان گرده‌زا، گروه دو شامل رقم شکوفه به‌عنوان گرده‌گیرنده و رقم‌های سهند و تونو و نژادگان‌های A_{1.16}، A₂₃₀ به‌عنوان گرده‌زا و گروه سه شامل رقم تونو به‌عنوان گرده‌گیرنده و رقم سهند به همراه نژادگان‌های A_{9.7}، A_{1.16}، A₂₃₀ به‌عنوان گرده‌زا در نظر گرفته شدند. این آزمایش در باغ کلکسیون تحقیقاتی مشکین‌شهر واقع در شهرستان کرج وابسته به مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر وزارت جهاد کشاورزی انجام شد. در مرحله متورم شدن جوانه‌ها و چند روز پیش از باز شدن گل‌ها، شاخه‌های درختان گرده‌گیرنده که جوانه گل کافی داشتند در چهار جهت اصلی انتخاب و ضمن برچسب‌زنی برای جلوگیری از گرده‌افشانی آزاد، پیش از باز شدن گل‌ها و پس از گرده‌افشانی کنترل‌شده با کیسه‌های پارچه‌های ململ به ابعاد ۵۰×۷۰ سانتی‌متری پوشانیده شدند (Rasouli *et al.*, 2009).

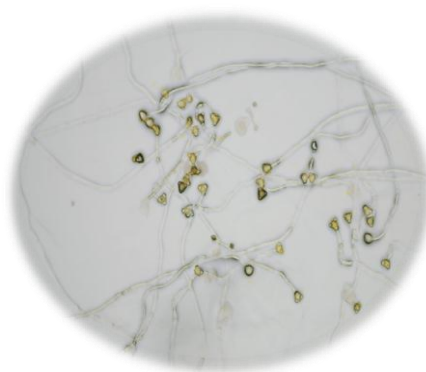
حشرات با گل‌های موردنظر جلوگیری شد. برای اطمینان، گرده‌افشانی دوباره (به فاصله دو تا سه روز پس از گرده‌افشانی اول) گل‌های شکفته‌شده درون کیسه با دانه گرده موردنظر صورت گرفت. پس از آخرین گرده‌افشانی، شمار گل‌های گرده‌افشانی‌شده در هر شاخه ثبت و کیسه‌ها روی شاخه‌ها قرار گرفتند. همچنین، شرایط اقلیمی محل انجام آزمایش در زمان گرده‌افشانی یادداشت شد (جدول ۱) (Rasouli *et al.*, 2009).

گل‌های باز نشده و گل‌هایی که خیلی زودتر باز شده بودند حذف شد. دو روز پس از باز شدن گل‌ها در هر واحد آزمایشی عمل گرده‌افشانی کنترل‌شده در صبح و عصر انجام گرفت. پس از باز کردن هر کیسه دانه‌های گرده با قلم‌موهای ویژه برای هر رقم که با برچسب مشخص شده بود، روی کلاله منتقل شدند. در همه مراحل گرده‌افشانی، ضدعفونی دست‌ها و وسایل با الکل اتیلیک انجام شد تا از آلودگی دانه گرده جلوگیری شود. در طول زمان گرده‌افشانی از تماس



شکل ۱. مراحل تهیه دانه گرده: پیش‌رس کردن شاخه (۱)، جدا کردن جوانه‌های گل در مرحله بالونی (۲)، گردآوری دانه گرده (۳)، انتقال به ویال‌های شیشه‌ای (۴)

Figure 1. Pollen preparation stages: forcing branches (1), Separate flower buds in balloon stage (2), Pollen collecting (3), Transmission to a glass vial (4)



شکل ۲. جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط آزمایشگاه
Figure 2. Pollen germination under *in vitro* condition

جدول ۱. شرایط اقلیمی باغ مشکین‌آباد در زمان آزمایش

Table 1. Meshkin Abad orchard climatic conditions at the time of experiment

Wind Status	Sky Status	Minimum temperature (°C)	Afternoon temperatures (°C)	Morning temperatures (°C)	History (Day)
Mild Breeze	Cloudy	10	28	17	March 15, 2013
Mild Breeze	Sunny	8	29	16.5	March 16, 2013
Mild Wind	Cloudy	9	24	17	March 17, 2013
Slow Breeze	Cloudy	5	25	14.5	March 18, 2013
No wind	Sunny	4	21	13.5	March 19, 2013
No wind	Sunny	3	17.5	13	March 20, 2013
Slow Breeze	Sunny	4	22	15	March 21, 2013

درصد نفوذ لوله‌های گرده به تخمدان محاسبه و ملاک تجزیه آماری قرار گرفت (Rasouli & Arzani, 2010).

طرح آزمایشی

آزمایش مربوط به آزمون جوانه‌زنی دانه گرده رقم‌ها و نژادگان‌ها در قالب طرح کامل تصادفی و با سه تکرار برای هر رقم یا نژادگان انجام گرفت. آزمایش مربوط به ترکیب تلاقی‌ها در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انجام گرفت، به گونه‌ای که برای هر گرده گیرنده چهار تیمار (گرده‌زا) در چهار تکرار در نظر گرفته شد. شاخه‌هایی که روی آن‌ها تلاقی انجام شد در جهت‌های شرقی، غربی، شمالی و جنوبی درختان انتخاب و سپس هر کدام از این شاخه‌ها با یک گرده‌زا تیمار شد. آزمایش مربوط به ردیابی لوله گرده در مادگی رقم‌ها و نژادگان نیز در قالب طرح کامل تصادفی و با ده تکرار برای هر ترکیب تلاقی انجام گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در هر گروه به صورت جداگانه و از روش نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ تجزیه و تحلیل شد. نمودار مربوط به درصد ریزش میوه از طریق نرم‌افزار EXCEL رسم شد.

نتایج

جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط درون شیشه

تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده نشان داد بین درصد جوانه‌زنی دانه گرده رقم‌ها و نژادگان‌های به کاررفته در این تحقیق اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت (جدول ۲). نتایج جوانه‌زنی دانه گرده در شرایط درون شیشه نشان داد درصد جوانه‌زنی دانه گرده رقم‌های مورد بررسی بین ۷۵ درصد تا ۹۸ درصد بود. بالاترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده مربوط به نژادگان‌های $A_{10.11}$ (۹۸ درصد) و $A_{1.16}$ (۹۴ درصد) بود که با نبود اختلاف معنی‌دار با نژادگان $A_{9.7}$ با دیگر رقم‌ها و نژادگان‌ها اختلاف معنی‌دار داشتند. کمترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده مربوط به رقم سهند (۷۵ درصد) بود که با دیگر رقم‌ها و نژادگان‌ها اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۳).

شمارش و تعیین درصد تشکیل میوه

به منظور تعیین درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های مختلف، در سه نوبت (شمارش اول ۱۶ روز، شمارش دوم ۴۲ روز و شمارش سوم ۹۰ روز) پس از عمل گرده‌افشانی شمار میوه‌های تشکیل شده روی شاخه‌ها به طور جداگانه در هر تلاقی شمارش و نتایج ثبت شد. با توجه به شمار گل‌های گرده‌افشانی شده در هر شاخه، در هر شمارش درصد میوه‌های تشکیل شده ملاک تجزیه آماری قرار گرفت.

بررسی میزان نفوذ لوله گرده به تخمدان

به منظور ردیابی لوله گرده در مادگی هر یک از ترکیب تلاقی‌ها از میکروسکوپ فلورسنت استفاده شد. بدین منظور مادگی‌های تلقیح شده ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی قطع شده و درون ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ سی‌سی محلول تثبیت‌کننده (فیکساتور حاوی ۵ درصد فرمالدئید ۵۰ درصد، ۵ درصد اسیداستیک گلاسیال و ۹۰ درصد الکل ۷۰ درصد) قرار گرفتند (Socias i Company et al., 1976). نمونه‌ها تا انجام آزمایش‌های بعدی در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها از محلول تثبیت‌کننده خارج شد و پس از شستشو با آب مقطر درون ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سولفیت سدیم ۵ درصد قرار گرفتند، سپس به منظور نرم شدن بافت مادگی درون اتوکلاو در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع به مدت پانزده دقیقه قرار داده شده و در نهایت توسط محلول آنیلین‌بلو رنگ‌آمیزی لوله‌های گرده انجام گرفت (Rasouli & Arzani, 1976; Socias i Company et al., 2010). برای آماده‌سازی مادگی‌ها از ویال‌های شیشه‌ای خارج و سه بار با آب مقطر شستشو داده شده و زیر بینوکولر قرار گرفتند. زوائد و کرک‌های موجود روی خامه و تخمدان پاک شدند. از خامه‌ها لام و لامل تهیه شده و سپس در یک اتاق تاریک نفوذ لوله گرده رقم‌های مختلف در مادگی‌ها با میکروسکوپ فلورسنت شد. میانگین جوانه‌زنی دانه گرده در سطح کلاله و لوله‌های گرده وارد شده به تخمدان ثبت شد و بر پایه آن

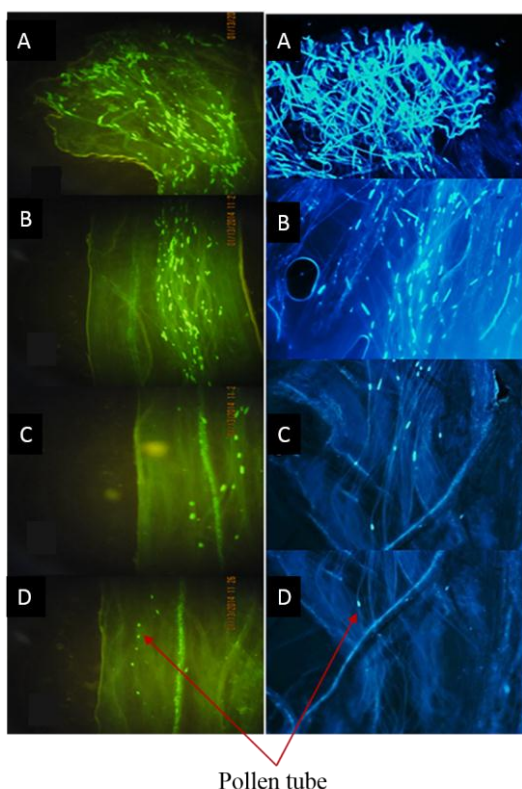
جدول ۲. تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی دانه گرده رقم‌ها و نژادگان‌های مورد بررسی
Table 2. Analysis of variance of varieties and genotypes studied pollen germination

Source variation	Degrees of freedom	Mean of square
Genotype	7	187.77
Test error	16	22.58
**= Significant at the 1 %		Coefficient of Variation : 5.52%

جدول ۳. درصد جوانه‌زنی دانه گرده رقم‌ها و نژادگان‌ها مورد بررسی در این تحقیق

Table 3. Percentage of germination pollen cultivars and genotypes studied in this research

Cultivars and genotypes	Percentage of pollen germination	Cultivars and genotypes	Percentage of pollen germination
Shokofeh	85 ^{bc}	A _{8,39}	85 ^{bc}
Sahand	75.16 ^d	A _{9,7}	90.13 ^{ab}
tuono	79.93 ^{cd}	A _{10,11}	98.2 ^a
A _{1,16}	94.83 ^a	A ₂₃₀	79.93 ^{cd}



شکل ۳. جوانه‌زنی و رشد لوله گرده رقم تونو در سطح کلالة (A)، بالای خامه (B)، وسط خامه (C) و درون تخمدان (D) نژادگان A_{9,7} (گرده گیرنده) ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی (سمت چپ)، جوانه‌زنی و رشد لوله گرده رقم سهند در سطح کلالة (A)، بالای خامه (B)، وسط خامه (C) و درون تخمدان (D) رقم تونو (گرده گیرنده) ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی (سمت راست).

Figure 3. Germination and pollen tube growth Tuono cultivar in stigma (A), upper style (B), middle style (C) and inside of ovary (D) A_{9,7} genotypes (female parent) 120 hours after pollination (Left side), germination and pollen tube growth Sahand cultivar in stigma (A), upper style (B), middle style (C) and inside of ovary (D) Tuono cultivar (female parent) 120 hours after pollination (right side).

میزان نفوذ لوله گرده به تخمدان

ردیابی رشد لوله گرده در مادگی ترکیب تلاقی‌های مختلف با میکروسکوپ فلورسنت انجام شد (شکل ۳). درصد نفوذ لوله گرده به درون تخمدان تلاقی‌های گروه‌های مختلف محاسبه و مقایسه میانگین با آزمون دانکن انجام گرفت (جدول ۵). نتایج نشان داد بین گرده‌زاهای مختلف گرده گیرنده‌های شکوفه و A_{9,7} از نظر درصد نفوذ لوله گرده به تخمدان اختلاف معنی‌دار نبوده است، این نتیجه بیان‌کننده قابلیت بالای رشد لوله گرده در همه گرده‌زاهای برای نفوذ به تخمدان رقم شکوفه و نژادگان A_{9,7} است. نتایج به‌دست‌آمده از گرده‌زاهای رقم تونو اختلاف معنی‌دار بین تلاقی‌های مختلف را نشان داد. در این گروه نژادگان A_{9,7} (با ۱۰/۹۷ درصد) و نژادگان A_{1,16} (با ۸/۳۸ درصد) بیشترین درصد نفوذ لوله گرده به تخمدان تونو را داشتند و با نژادگان A₂₃₀ (با ۳/۱۱ درصد) و رقم سهند (با ۳/۷۴ درصد) اختلاف معنی‌دار نشان دادند.

درصد تشکیل میوه در زمان‌های مختلف

به‌منظور تعیین درصد تشکیل میوه و همچنین درصد ریزش گل‌های گرده‌افشانی‌شده در سه نوبت پس از عمل گرده‌افشانی نتایج ثبت شد. بدین ترتیب که کیسه‌ها باز شده و گل‌های گرده‌افشانی‌شده به‌طور جداگانه در هر ترکیب تلاقی شمارش شدند با توجه به شمار گل‌های گرده‌افشانی‌شده در هر شاخه، در هر شمارش درصد میوه‌های تشکیل‌شده تجزیه آماری شد (جدول ۴). شمارش میوه‌ها در سه نوبت پس از گرده‌افشانی انجام شد. شمارش اول ۱۶ روز، شمارش دوم ۴۲ روز و شمارش سوم ۹۰ روز پس از گرده‌افشانی انجام گرفت (شکل‌های ۴، ۵ و ۶).



شکل ۵. میوه‌های دورگ ناشی از ترکیب تلاقی‌های انجام‌شده روی گرده گیرنده تونو
Figure 5. Fruits resulted from crosses of polinizers with Tuono as a seed parent



شکل ۴. میوه‌های دورگ ناشی از ترکیب تلاقی‌های انجام‌شده روی گرده گیرنده A9.7
Figure 4. Fruits resulted from crosses of polinizers with A9.7 as a seed parent



شکل ۶. میوه‌های دورگ ناشی از ترکیب تلاقی‌های انجام‌شده روی گرده گیرنده شکوفه
Figure 6. Fruits resulted from crosses of polinizers with shokofeh as a seed parent

جدول ۴. تجزیه واریانس درصد تشکیل میوه در شمارش‌های مختلف تلاقی‌های انجام‌شده روی گرده گیرنده‌های مختلف

Table 4. Analysis of variance of fruit set in different crosses the different seed parents

Sources of variation	df	♀ A9.7			♀ Tuono			♀ Shokofeh		
		Initial fruit set	Middle fruit set	Final fruit set	Initial fruit set	Middle fruit set	Final fruit set	Initial fruit set	Middle fruit set	Final fruit set
Treatments	3	13.89**	17.95**	8.17**	10.17**	7.06**	7.8*	1.43ns	0.34ns	0.20ns
Replication	3	1.35ns	1.89ns	0.89ns	0.76ns	0.89ns	0.71ns	1.81ns	2.1ns	2.03ns
Error	9	65.88	47.64	92.50	87.53	71.40	98.48	72.57	188.9	213.6
Coefficient of variation		10.10	9.27	14.41	15.75	15.51	19.46	9.90	17.44	19.76

ns و **: به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵ و ۱٪.

ns, *, **: No Significant, Significant at the 5 %, and 1% levels.

نژادگان A_{10.11} با ۷۹/۲۰ درصد تشکیل میوه بود (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس درصد تشکیل میوه گردۀ گیرنده تونو در شمارش آخر تنها در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار بود و نتایج مقایسه میانگین دو سطح را نشان داد که در آن نژادگان A_{9.7} و A_{1.16} بدون اختلاف معنی دار نسبت به یکدیگر بیشترین درصد تشکیل میوه را روی گردۀ گیرنده رقم تونو داشتند همچنین، میانگین درصد تشکیل میوه نژادگان A_{9.7} با ۶۰/۵۲ درصد بیشترین درصد تشکیل میوه را داشت و به عنوان بهترین گرده‌زا برای رقم تونو معرفی شد (جدول ۵). نتایج تجزیه واریانس درصد تشکیل میوه گردۀ گیرنده شکوفه در شمارش آخر نشان داد هیچ اختلاف معنی دار بین گرده‌زها از نظر تشکیل میوه در شمارش آخر وجود ندارد همچنین، رقم سهند با ۷۷/۲۵ درصد تولید میوه بهترین گرده‌زا برای رقم شکوفه بود (جدول ۵).

محاسبه درصد ریزش‌های اول، دوم و سوم در ترکیب تلاقی‌های به‌کاررفته در این تحقیق نشان داد از نظر ریزش میوه در شمارش اول اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد بین ترکیب تلاقی‌ها وجود داشت (شکل ۷). بر پایه آزمون مقایسه میانگین گرده‌افشانی تونو با گردۀ سهند (۵۴/۲۸ درصد ریزش میوه) و تونو با گردۀ A₂₃₀ (۵۲/۱۷ درصد ریزش میوه) با اختلاف معنی دار نسبت به دیگر تلاقی‌ها بیشترین ریزش میوه در شمارش اول را داشت. نتایج به‌دست‌آمده از درصد ریزش میوه در شمارش‌های دوم و سوم (شکل ۷) اختلاف معنی داری در تلاقی‌های مختلف نشان نداد هرچند که درصد ریزش میوه در ترکیب تلاقی‌های مختلف، متفاوت بود.

درصد تشکیل میوه در زمان ۹۰ روز پس از گرده‌افشانی (شمارش سوم)

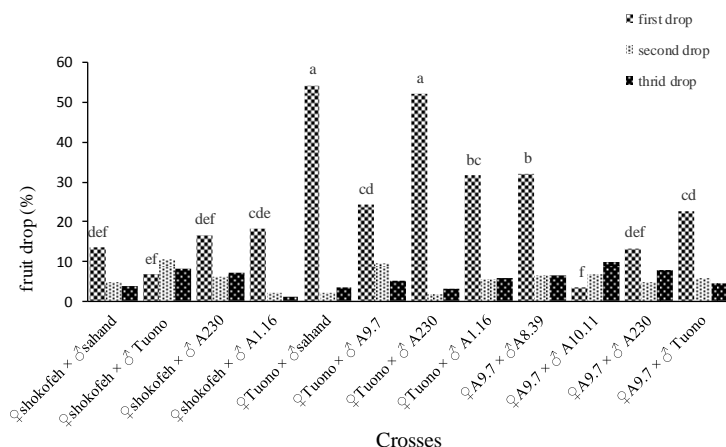
افزون بر محاسبه درصد تشکیل میوه در زمان ۹۰ روز پس از گرده‌افشانی (شمارش سوم) که ملاک تعیین روابط سازگاری بین رقم‌ها و نژادگان‌ها قرار گرفت، درصد تشکیل میوه در زمان ۱۶ و ۴۲ روز پس از گرده‌افشانی (شمارش اول و دوم) نیز محاسبه شد که نتایج نشان داد در شمارش اول تلاقی‌های A_{10.11} ♂ × A_{9.7} ♀ (۹۶/۴۷ درصد)، A_{9.7} ♂ × Tuono ♀ (۷۵/۷۵ درصد) و ♂ × شکوفه ♀ (۹۳/۱۰ درصد) و در شمارش دوم تلاقی‌های A_{10.11} ♂ × A_{9.7} ♀ (۸۹/۳۰ درصد)، A_{9.7} ♂ × Tuono ♀ (۶۵/۷۲ درصد) و ♂ × شکوفه ♀ (۸۳/۶۵ درصد) بیشترین درصد تشکیل میوه در گروه‌های مختلف را داشتند (جدول ۵).

در شمارش سوم که مهم‌ترین شمارش در این بررسی و ارزیابی بود نیز درصد تشکیل میوه در تیمارهای مختلف مانند شمارش‌های اول و دوم محاسبه شد که نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) و مقایسه میانگین در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس گردۀ گیرنده A_{9.7} در شمارش آخر نشان داد بین گرده‌زها از نظر درصد تشکیل میوه اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول ۴). آزمون مقایسه میانگین نشان داد (جدول ۵) تیمارهای گرده‌زا در این شمارش در دو سطح قرار گرفتند که نژادگان‌های A_{10.11}، A₂₃₀ و رقم تونو بدون اختلاف معنی دار نسبت به یکدیگر بیشترین درصد تشکیل میوه را روی گردۀ گیرنده A_{9.7} داشتند همچنین، بهترین گرده‌زا برای گردۀ گیرنده A_{9.7}

جدول ۵. درصد تشکیل میوه در شمارش‌های مختلف و میزان نفوذ لوله گردۀ به تخمدان

Table 5. Percentage of fruit set in different counted and pollen tube penetrates in ovary

Group	Crosses		Number of flowers	Initial fruit set (%)	Middle fruit set (%)	Final fruit set (%)	Pollen tube penetrates in ovary (%)
	♀	♂					
I	A _{9.7} × A _{8.39}		380	67.8 c	55.4 c	47.6 b	14.08 ns
	A _{10.11}		244	96.4 a	89.3 a	79.2 a	12.26 ns
	A ₂₃₀		334	86.5 ab	81.5 ab	73.5 a	11.18 ns
	Tuono		535	77.3 b	71.2 b	66.6 a	10.06 ns
II	Tuono × A _{1.16}		309	68.3 a	62.5 a	56.6 a	8.38 a
	A _{9.7}		394	75.7 a	65.7 a	60.5 a	10.97 a
	Sahand		385	45.7 b	43.8 b	39.5 b	3.74 b
	A ₂₃₀		626	47.8 b	45.8 b	42.4 ab	3.1 b
III	Shokofe × A ₂₃₀		442	83.1 ns	74 ns	69.4 ns	10.76 ns
	A _{1.16}		518	81.6 ns	76.2 ns	74.9 ns	14.40 ns
	Tuono		499	93.1 ns	83.6 ns	74.2 ns	12.17 ns
	Sahand		404	86.3 ns	81.3 ns	77.2 ns	12.24 ns



شکل ۷. درصد ریزش میوه در شمارش‌های اول، دوم و سوم در ترکیب تلاقی‌های مختلف
Figure 7. Fruit drop in counting first, second and third on different crosses

(*al.*, 2005). همچنین تحقیقات دیگر نشان داد درصد تشکیل میوه بین تلاقی رقم‌های رامیلت ♂ × ماسبوورا ♀ در شرایط گرده‌افشانی کنترل شده ۵۴ درصد بود (Ortega *et al.*, 2004). عمده‌ترین مسئله‌ای که تولید میوه در بادام را با چالش روبه‌رو می‌کند خودناسازگاری و دگرناسازگاری است. همچنین نبود تخمک بارور می‌تواند باعث کاهش میزان محصول شود (Ben-Nijama & Socias i Company, 1995). در بین همه تلاقی‌های به‌کاررفته در این تحقیق در تلاقی‌های بین گرده گیرنده تونو با گرده‌زاهای سه‌پند و A₂₃₀ کمترین درصد تشکیل میوه مشاهده شد. وجود هم‌ردیف ژنی S₁ در رقم‌های سه‌پند و تونو (Zeinalabedini *et al.*, 2007) و نژادگان A₂₃₀ (Fallah *et al.*, 2014) نشان داد کاهش درصد تشکیل میوه در این تلاقی‌ها ناشی از وجود هم‌ردیف‌های ژنی S₁ ناسازگاری مشترک در این رقم‌ها و نژادگان بوده که این هم‌ردیف ژنی مشترک باعث بیان پروتئین‌های S-RNases در خامه رقم تونو و به دنبال آن باعث متورم (کالوزه) شدن و توقف رشد لوله گرده در ۱/۳ بالایی خامه می‌شود که در نهایت درصد تشکیل میوه در این تلاقی‌ها کاهش می‌یابد. همچنین، ردیابی نفوذ لوله گرده با میکروسکوپ فلورسنت (جدول ۵) نیز نشان داد این ترکیب تلاقی‌ها کمترین درصد نفوذ لوله گرده به تخمدان را داشتند، که این کاهش نفوذ لوله گرده به تخمدان می‌تواند دلیلی بر کاهش تشکیل میوه در این تلاقی‌ها باشد.

بحث

در درختان میوه میزان درصد جوانه‌زنی دانه گرده متفاوت بوده و باید محیط کشت مناسب هرگونه یا رقم به‌صورت اختصاصی تهیه شود همچنین، افزون بر ترکیب‌های محیط کشت، سن اولیه گرده و دما در جوانه‌زنی گرده بادام به‌طور فراوانی تأثیرگذار است (Imani & Tlaie, 1998; Rasouli & Imani, 2016). درصد جوانه‌زنی دانه گرده رقم‌ها و نژادگان‌ها نشان داد دانه‌های گرده مورد استفاده سالم و دارای زیوایی مناسب برای استفاده در این تحقیق بودند.

در بیشتر تلاقی‌های انجام‌شده درصد تشکیل میوه بیش از ۵۰ درصد بود. این نتیجه به دلیل کنترل‌شده بودن شرایط تلقیح است، چراکه در این حالت در هنگام گرده‌افشانی همه گل‌های باز شده و جوانه‌های گل کوچک حذف شدند و تنها گل‌هایی که در مرحله بالنی بودند روی شاخه‌های درخت نگه داشته و تلاقی شدند. حذف شماری از کل گل‌های درخت این شرایط را فراهم کرد تا درصد قابل‌توجهی از گل‌های باقی‌مانده در صورت سازگاری با گرده‌زاهای میوه تشکیل دهند. از سوی دیگر با توجه به انجام گرده‌افشانی در بهترین زمان با دانه‌های گرده سالم و تکرار گرده‌افشانی، درصد تشکیل میوه بالایی به دست آمد. این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده برای درصد تشکیل میوه در تلاقی‌های، مرسد ♂ × کارپاریل ♀ (با ۶۷/۵۰ درصد تشکیل میوه) و تونو ♂ × کارپاریل ♀ (با ۶۹/۵۰ درصد تشکیل میوه) همخوانی داشت (Dorostkar *et*

یکی از مهم‌ترین چالش‌های کشت بادام در ایران ریزش میوه است. عامل‌های چندی می‌توانند باعث ریزش گل و میوه در بادام شده و میزان محصول را تحت تأثیر قرار دهند که از این عامل‌ها می‌توان به میزان و کیفیت آب، کیفیت خاک، هرس، کود، شرایط محیطی پیش و پس از گلدهی اشاره کرد. با توجه به یکسان بودن این عامل‌ها در این تحقیق عامل تأثیرگذار در میوه‌دهی بادام سازگاری و لقاح است (Ortega & Dicenta, 2004). محققان نشان دادند

مهم‌ترین دلیل ریزش میوه‌های کوچک در مرحله اول، دگر ناسازگاری بوده که باعث می‌شود میوه‌ها در اثر لقاح نامناسب و تشکیل نشدن جنین ریزش کنند (Socias i Company et al., 1976). نتایج این تحقیق نشان داد عامل اصلی از دست رفتن قسمت اعظم میوه در تلاقی‌های بالا نیز همان ناسازگاری بین گرده و مادگی والد‌های پدری و مادری است. ریزش میوه در مراحل دوم و سوم نیز می‌تواند در اثر تکامل نیافتن جنین یا رقابت میوه‌ها برای جذب عناصر غذایی باشد (Ortega & Dicenta, 2004).

محققان برای بررسی سازگاری و ناسازگاری رقم‌های بادام از روش‌های گرده‌افشانی کنترل‌شده، ردیابی لوله گرده در مادگی با میکروسکوپ فلورسنت، الکتروفورز ریبونوکلازهای خامه، PCR اختصاصی همردیف‌های S و توالی‌یابی استفاده می‌کنند (Ortega et al., 2002). هرکدام از روش‌های یادشده کاستی‌ها و برتری‌هایی دارند. در این بین بررسی سازگاری رقم‌ها با روش گرده‌افشانی کنترل‌شده می‌تواند بهترین گرده‌زا را برای کاشت بادام معرفی کند (Rasouli et al., 2009).

تحقیقات نشان می‌دهد عامل‌های محیطی مانند باد، باران و دماهای پایین می‌توانند باعث کندی رشد لوله گرده در خامه شده و زمان رسیدن لوله گرده به تخمدان را طولانی و حتی غیرممکن سازد. سرعت حرکت لوله گرده در خامه رقم‌های مختلف بادام متفاوت بوده و دما تأثیر متفاوتی بر سرعت رشد لوله گرده در رقم‌های مختلف دارد. در صورت گرده‌افشانی و رشد موفق لوله گرده، باروری و لقاح لازمه تولیدمثل جنسی است. ریزش گل و میوه‌های جوان در گونه‌های مختلف به دلیل ناقص بودن تخمک یا سقط‌جنین و یا غیرعادی بودن کیسه جنینی یا ناباروری آن است. در بادام خودسازگاری و خودگرده‌افشانی باعث تشکیل میوه کمتر نسبت به دگرگرده‌افشانی می‌شود که نبود تخمک بارور یکی از دلایل این کاهش محصول است

استفاده از گرده‌زاهای مناسب و سازگار می‌تواند باعث ایجاد لقاح موفق و در افزایش عملکرد بادام مؤثر باشد (Dicenta et al., 2002). بنابراین تعیین بهترین گرده‌زاهای تجاری بادام در کشور راهبرد به‌نژادی بااهمیت بوده و می‌تواند تولید بادام در کشور را افزایش دهد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد بهترین گرده‌زا برای رقم تونو نژادگان A_{9.7}، برای رقم شکوفه، رقم سهند و برای نژادگان A_{9.7} گرده‌زای نژادگان A_{10.11} هستند. بنابراین به‌عنوان بهترین ترکیب تلاقی بین تلاقی‌های به‌کاررفته در این تحقیق معرفی شده و می‌توان در کشت باغ‌های بادام به‌منظور حصول بیشتر محصول از آن‌ها بهره برد.

REFERENCES

1. Bennijma, N. & Socias i Company, R. (1995). Characterization of some self-compatible almonds. II: Flower phenology & morphology. *Horticultural Science*, 30, 318-320.
2. Boskovic, R., Tobutt, K.R., Duval, H., Batlle, I., Dicenta, F. & Vargas, F.J. (1999). A stylar ribonuclease assay to detect self-compatible seedlings in almond progenies. *Theoretical and Applied Genetics*, 99, 800-810.

3. Dicenta, F. & Garcia, J.E. (1993). Inheritance of self-compatibility in almond. *Heredity*, 70, 313-317.
4. Dicenta, F., Ortega, E., Cánovas, J.A. & Egea, J. (2002). Self-pollination vs. cross-pollination in almond: pollen tube growth, fruit set & fruit characteristics. *Plant Breeding*, 121, 163-167.
5. Dorostkar, M. (2005). Survey on the morphological properties of almond in Fars Province. In: Proceedings of the IV International Symposium on Pistachios & Almonds. Iranian Pistachio Research Institute, Rafsanjan, Iran. Page 325. (in Farsi)
6. Fallah, M., Sharafi, Y., Rasouli, M. & Imani, A. (2014). Compatibility relationships among some almond genotypes and cultivars using PCR. In: Proceeding of Iranian Society of plant physiology. 7-9 May., Esfahan University, Esfahan, Iran, 3, 941-944. (in Farsi)
7. Imani, A. & Talaie, A.R. (1998), Effect of culture medium type & temperature on pollen germination of almond in vitro. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 29, 79-87. (in Farsi)
8. Kester, D. E., Gradziel, T. M. & Micke, W. C. (1994). Identifying pollen incompatibility groups in California almond cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 106-109.
9. Kester, D. E., Hansche, P., Beres, E. & Asay, R. N. (1977). Variance components & heritability of nut & kernel traits in almond. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102, 264-266.
10. Martinez Gomez, P., Alonso, J. M., Lopez, M., Battle, I., Ortega, E., Sanchez-perez, R. & Dicenta, F. (2003). Identification of self-incompatibility alleles in almond & related *Prunus* species using PCR. *Theoretical and Applied Genetics*, 123, 397-401.
11. Mosavi, A., Fatahi, R., Zamani, Z. & Imani, A. (2009). Evaluation of Quantitative & Qualitative Characteristics of some Almond Cultivars & Genotypes. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 41(20), 119-131. (in Farsi)
12. Ortega E., Egea, J., Cánovas, J. A. & Dicenta, F. (2002). Pollen tube dynamics following half- and fully compatible pollinations in self-compatible almond cultivars. *Journal of Sexual Plant Reproduction*, 15, 47-51.
13. Ortega, E. & Dicenta, F. (2004). Suitability of four different methods to identify self-compatible Seedlings in an almond breeding program. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(5), 747-753.
14. Oukabli, A., Lansari, A., Wallali, D. L., Abousalim, A., Egea, J. & Michaux-Ferriere, N. (2000). Self and cross-pollination effects on pollen tube growth and fertilization in self-compatible almond *Prunus dulcis* Tuono. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75, 739-744.
15. Rasouli, M. & Arzani, K. (2010). Effect of type pollen on the pollen tube growth and quantitative and qualitative cherry fruit cultivar Zard Daneshkadeh. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 4(41), 309-318. (in Farsi)
16. Rasouli, M. & Imani, A. (2016). Effect of supplementary pollination by different pollinizers on fruit set and nut physicochemical traits of 'Supernova', a self-compatible almond. *Fruits*, 71, 299-306.
17. Rasouli, M., Fatahi, R., Zamani, Z. & Imani, A. (2009). Study Compatibility and Effects of pollination cultivar "Supernova" with pollen different Variety in Almond. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 4(40), 61-70. (in Farsi)
18. Sanchez-Perez, R., Dicenta, F. & martinez-Gomez, P. (2004). Identification of S-alleles in almond using multiplex PCR. *Euphytica*, 138, 263-269.
19. Socias i Company, R. & Felipe, A. J. (1987). Pollen tube growth & fruit set in a self-compatible almond selection. *Horticultural Science*, 22, 113-116.
20. Socias i Company, R. (1990). Breeding self-incompatibility almond. *Plant Breeding Review*, 8, 313-338.
21. Socias i Company, R., Kester, D. E. & Bradley, M. V. (1976). Effect of temperature & genotype on pollen tube growth in some self-compatible & self-incompatible almond cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 101, 490-493.
22. Socias i Company, R. & Alonso, J. M. (2004). Cross-incompatibility of "Ferralis" & "Ferragnes" & pollination efficiency for self-compatibility transmission in almond. *Euphytica*, 135, 333-338.
23. Tabebayashi, N., Brewer, P. B., Newbiggin, E. & Uyenoyama, M. K. (2003). Patterns of variations within self-incompatibility loci. *Molecular Biology and Evolution*, 20, 1778-1794.
24. Zeinalabedini, M. (2007). Study of genetic relationships among some of almond cultivars and *Prunus* related species with using SSR markers. Ph.D. thesis, Tabriz University, Iran. (in Farsi)