

تأثیر نوع محیط کشت بر جوانه زنی دانه گرده بادام در کشت In-vitro

علی ایمانی و علیرضا طلایی

دانشجوی دکتری دانشگاه تربیت مدرس و دانشیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش مقاله ۷۶/۷/۲۳

خلاصه

اکثر ارقام تجاری بادام خود ناسازگار هستند. از این رو برای داشتن محصول کافی بادام عمل دگر کرده افشانی و بدنبال آن تلقیح و تشکیل میوه ضرورت تام دارد. قسمت خوراکی میوه بادام بذر آن است که در اثر تلقیح بوجود می آید. لذا وجود دانه گرده زنده و سازگار در موقع گرده افشان الزامی است. بنابراین اطمینان از احتمال تنزیدن کافی دانه گرده در برنامه های بهنژادی و مطالعات گرده افشانی بادام، حائز اهمیت می باشد. بدین منظور آزمایشی برای آزمون جوانه زنی دانه گرده بادام در محیط های کشت مختلف برای تعیین قوه نامیه آن با آزمایش فاکتوریل دو عاملی با طرح کامل تصادفی در آزمایشگاه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۷۵ انجام گرفت. در این آزمایش دانه های گرده بادام رقم دیرگل انتخابی پس از تهیه و آماده سازی در چهار محیط کشت مختلف، قرار گرفتند. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که درصد جوانه زنی دانه گرده در محیط های کشت با ترکیبات مختلف متفاوت می باشد. بطوریکه بالاترین درصد جوانه زنی دانه گرده بیش از ۹۴٪ در محیط کشت پایه (نیترا کلسیم، اسید بوریک، سولفات منیزیم و نیترا پتاسیم به ترتیب ۳۰۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ پی پی ام) با ۱۰ درصد ساکارز و ۲٪ آگار و کمترین درصد جوانه زنی دانه گرده (۲۲/۶۷٪) در محیط کشت پایه با ۱۵٪ ساکارز و ۱/۵ درصد آگار بوده است. نتیجه آزمایش نشان داد که سن اولیه دانه گرده، درجه حرارت حدود ۲۰°C و نوع محیط کشت در جوانه زنی دانه گرده بادام بطور قابل ملاحظه ای موثر است.

واژه های کلیدی: محیط کشت، جوانه زنی، بادام، گرده بادام و کشت In-vitro

مقدمه

از اینرو علاوه بر گرده افشانی و تلقیح، حضور گرده سازگار

و زنده در موقع گرده افشانی و تلقیح ضروری است بدین جهت در باغات تجاری، ارقامی که نسبت بهم از نظر گرده افشانی سازگاری داشته و تقریباً دارای گلدهی همزمان می باشند در ردیفهای متناوب جهت تضمین انجام دگر گرده افشانی توسط حشرات بویژه زنبور عسل، کشت می شوند (۱۴). با وجود آن در بین ارقام بادام گروه های دگر ناسازگار نیز شناسایی شده است (۸). بنابراین کیفیت و نوع دانه گرده در موقع گرده افشانی و تلقیح بادام بر خلاف سایر میوه ها مانند برخی ارقام گلابی و انگورهای پانتوکارپ (بکرزا)

بادام نه تنها یکی از مهمترین محصولات خشکبار ایران می باشد، بلکه کشور ما نیز با تولید ۸۵۰۰ تن و با سطح زیر کشت ۲۹۹۸۰ هکتار و در حدود ۲۲۷۰۰ هکتار درختان بادام بارده جزو کشورهای عمده تولید کننده (پنجمین تولید کننده) محسوب می شود (۱ و ۲). از آنجائیکه محصول تجاری بادام مغز^۱ یا بذر^۲ میوه^۳ است. بنابراین گرده افشانی و تلقیح تخمک از ضروریات تولید محصول می باشد. از طرفی دیگر ارقام تجاری بادام به استثنای چند مورد، بدلیل پدیده خود ناسازگاری^۴ از نوع گامتوفیتیک دگرگشن می باشد (۱۳).

می‌تواند نقش مهمی را در تولید محصول ایفا نماید. از این جهت، شناخت کیفیت دانه گرده در برنامه های بهنژادی و مطالعات گرده افشانی ضرورت تام دارد. لذا هدف این مطالعه انتخاب بهترین محیط کشت برای آزمون جوانه زنی دانه گرده بمنظور تعیین قوه نامیه دانه گرده قبل از استفاده در گرده افشانی کنترل شده، رشد لوله گرده و تولید بذر هیبرید می باشد.

مواد و روشها

مواد گیاهی

آزمایش در سال ۱۳۷۵ در آزمایشگاه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت. برای تعیین تاثیر نوع محیط کشت بر جوانه زنی دانه گرده از گرده های رقم پربار، پوست نازک و دیرگل بادام انتخابی A-93 استفاده شد. شاخه هایی از اطراف درخت که هر کدام تقریباً "حاوی ۱۵۰-۱۰۰ عددگل در مرحله پاب کورن بودند، قطع و بلافاصله در جعبه های پلاستیک حاوی آب به آزمایشگاه منتقل شدند.

در آزمایشگاه شاخه های بریده در ظروف حاوی آب ۵٪ ساکارز قرار داده شدند (۱۱). پس از باز شدن گلها بلافاصله بساکهای گلهای سالم باز شده را بعد از جدا کردن بر روی کاغذ A4 بمدت ۱۲ ساعت قرار داده شدند تا رطوبت آنها گرفته شود و بعد آنها را در ظروف کوچک شیشه ای با دهانه منفذ دار قرارداده و پس از بهم زدن با قلم مو، گرده ها ظاهر و به محیط کشت انتقال داده شدند.

محیط کشت

برای کشت دانه گرده از محیط کشت پایه با درصدهای متفاوت ساکارز و آگار با آزمایش فاکتوریل دو عاملی با طرح کاملاً تصادفی به شرح جدول ۱ استفاده شد.

برای تهیه محیط کشت بدین ترتیب عمل شد:

ابتدا مقدار یک لیتر آب مقطر به ارلن مایر ریخته و روی شعله گذاشته تا جوشانده شود و در حین جوشیدن مقدار ۱/۰ گرم (۱۰۰ ppm) اسیدبوریک، ۳/۰ گرم نترات کلسیم، ۲/۰ گرم سولفات منیزیم و ۱/۰ گرم نترات پتاسیم به آن اضافه شد. محلول به ظروف ۱۰۰ سی سی ریخته و به آنها، a) ۱۰ گرم ساکارز بدون آگار، b) ۱۰ گرم ساکارز با ۲ گرم آگار (C) ۱۰ گرم ساکارز با ۱/۵ گرم آگار، d) ۱۰ گرم ساکارز با ۱ گرم آگار اضافه و کاملاً بهم زده شد تا محیط کشت یکنواخت و شفاف ایجاد شود سپس محیط کشت به پتری دیشهایی که قبلاً در اتوکلاو و ضدعفونی شده بودند، منتقل و پس از سرد شدن محیط کشت دانه های گرده بوسیله قلم مو بر روی محیط کشت پخش شدند و بلافاصله درب ظروف پتری دیش ها را گذاشته و ۲۴ ساعت در دمای معمولی (۲۲±۲ سانتیگراد) اتاق رشد گذاشته شدند و پس از آن اقدام به شمارش آنها با میکروسکوپ نوری شد

درجه حرارت

به منظور تعیین درجه حرارت بر تنزیدن دانه گرده آزمایش با محیط کشت حاوی ۲٪، ۱۰٪ ساکارز و ۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ و

جدول ۱ - انواع محیط های کشت دانه گرده بادام (با ۴ نوع ترکیب پیشنهادی)

محیط کشت	مواد معدنی				ساکارز (%)	آگار (%)			
	نترات	اسید	سولفات	نترات		a	b	c	d
	کلسیم	بوریک	منیزیم	پتاسیم					
	PPM	PPM	PPM	PPM					
A	۳۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۰	۰،۰۰،۰۰	۱،۱،۱	۱/۵،۱/۵،۱/۵	۲،۲،۲
B	۳۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵	۰،۰۰،۰۰	۱،۱،۱	۱/۵،۱/۵،۱/۵	۲،۲،۲
C	۳۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۱۰	۰،۰۰،۰۰	۱،۱،۱	۱/۵،۱/۵،۱/۵	۲،۲،۲
D	۳۰۰	۱۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۱۵	۰،۰۰،۰۰	۱،۱،۱	۱/۵،۱/۵،۱/۵	۲،۲،۲

شکل ۲ نشان می دهد که بین تیمارها اختلاف وجود دارد ولی تیمار آگار ۲٪ نسبت به سایر تیمارهای دارای اختلاف معنی دار می باشد از طرفی اثر متقابل آگار و ساکارز نیز در شکل ۳ نشان می دهد واکنش نسبتهای مختلف آگار و ساکارز به درصد جوانه زنی گرده متفاوت است این امر شاید در نتیجه تغییرات فشار اسمزی ایجاد شده در محیط کشت باشد که گزارش مشابهی توسط بارنس و کلولاند (۱۹۷۲) در مورد دانه گرده یونجه اعلام شده است بر اساس مشاهدات میکروسکوپی، دانه های گرده تا ۵ ساعت بعد از کشت جوانه می زنند و بعد از آن لوله های گرده پدیدار و رشد می نماید که مشابه این پدیده توسط سایرین گزارش شده است (۳ و ۱۱).

از مطالعات این آزمایش این نتیجه نیز گرفته شد که دما در جوانه زنی گرده ضروری است بطوریکه در جوانه زنی گرده ها در مدت زمان ثابت، شرایط دمای مطلوب کاملاً موثر بوده و جوانه زنی گرده ها برترتیب از ۹۰٪ تا ۵/۲٪ بعد از ۲۴ ساعت متغیر بود (جدول ۳).

بنابراین می توان اعلام کرد که در موقع گرده افشانی وجود شرایط دمای مناسب حائز اهمیت می باشد. بطوریکه گزارشات متعددی وجود دارد (۳، ۵، ۹، ۱۲ و ۱۷) که درجه حرارت عامل اصلی افزایش درصد جوانه زنی دانه گرده می باشد و افزایش تشکیل میوه در شرایط محیطی با دمای مناسب و آفتابی در موقع گرده افشانی گزارش شده است (۶ و ۹) و این پدیده را شاید بتوان بدینصورت تحلیل کرد که شرایط نوری مزرعه سبب افزایش درجه حرارت شده و بدینترتیب جوانه زنی دانه گرده بطور غیر مستقیم تحت تاثیر قرار

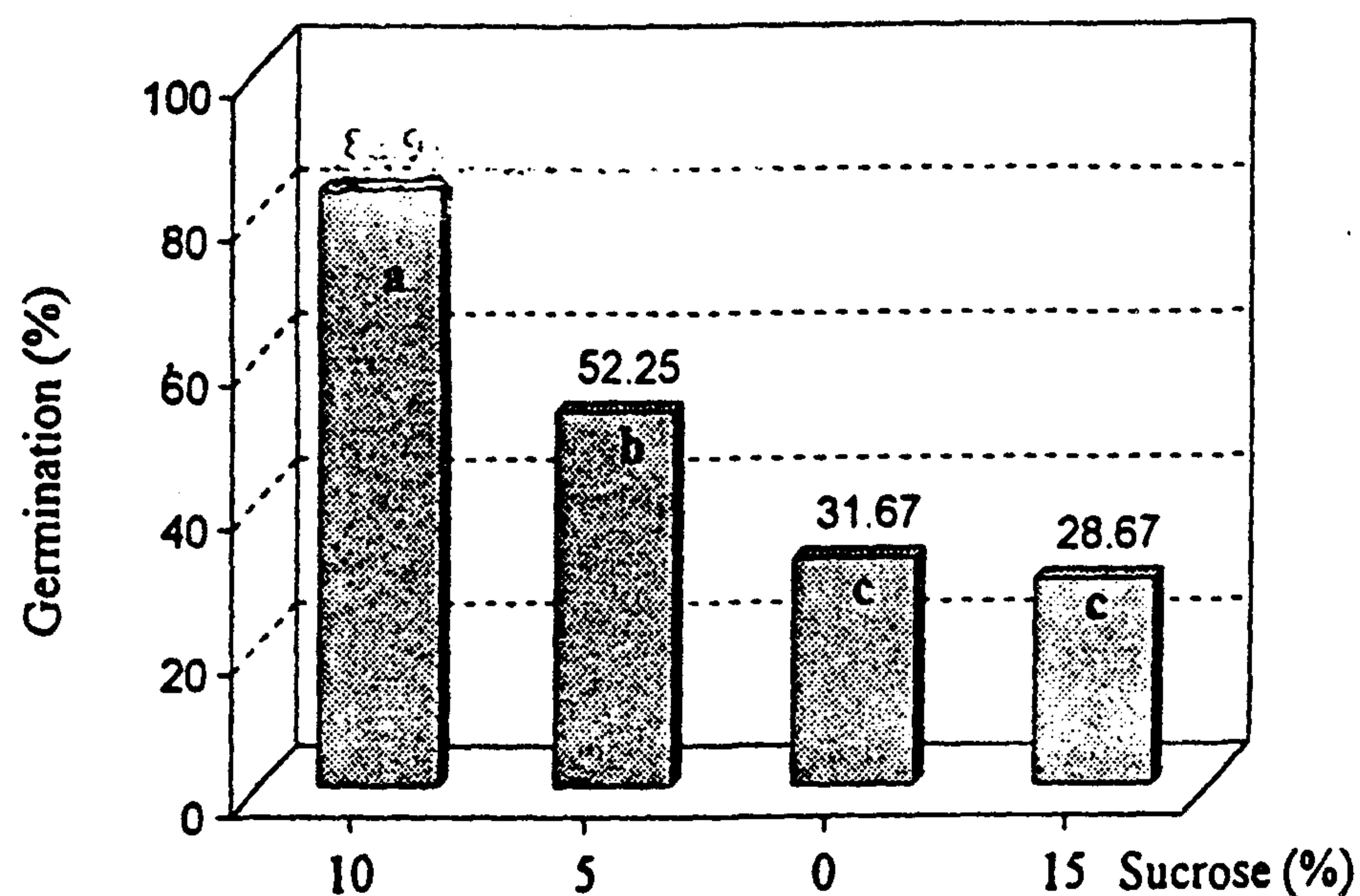
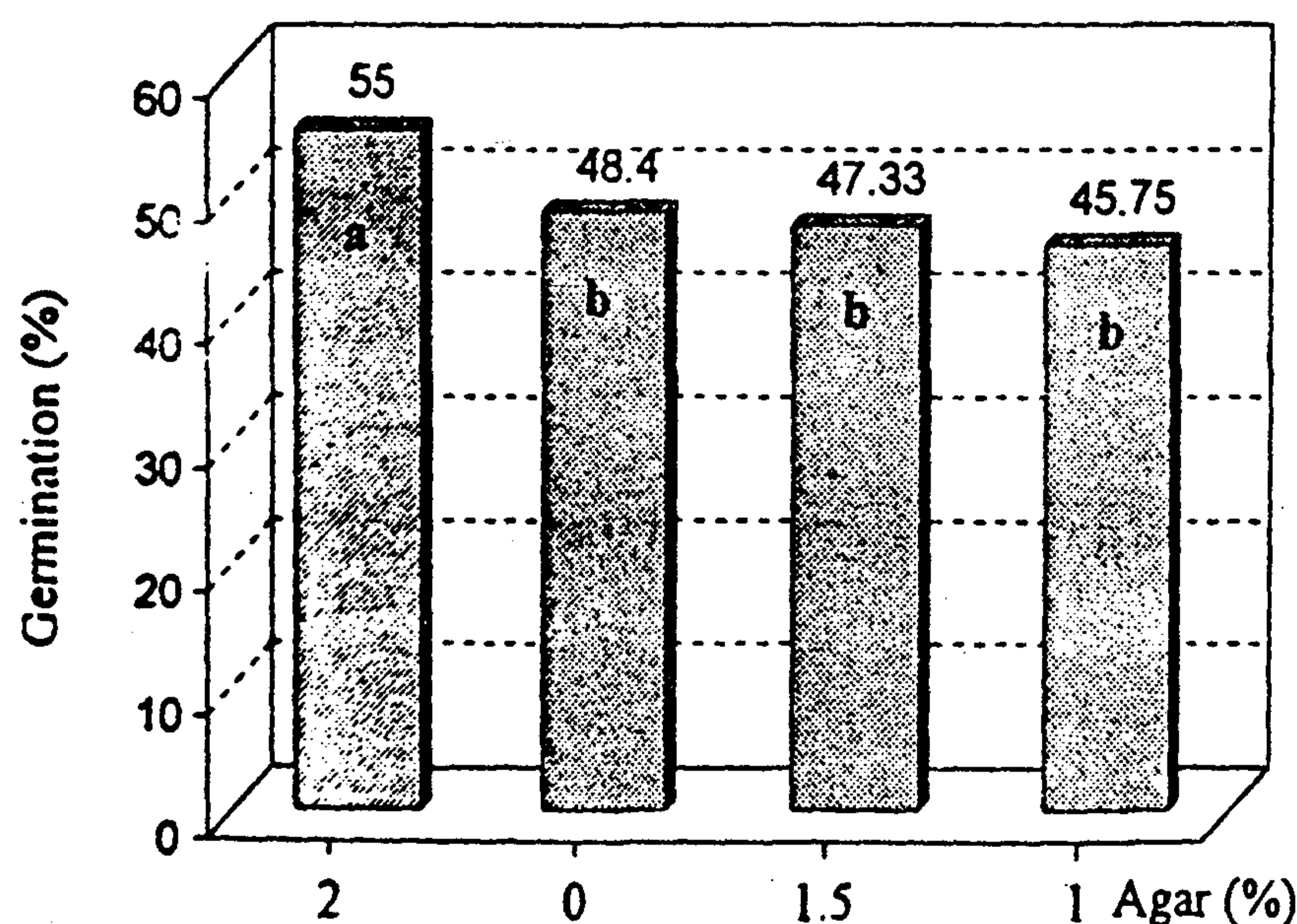
۳۰۰ پی پی ام به ترتیب نیترات پتاسیم، سولفات منیزیم، اسیدبوریک و نیترات کلسیم با دماهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۰ درجه سانتیگراد انجام گرفت که در این آزمایش از طرح کامل تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار استفاده شد.

همچنین جهت بررسی تاثیر سن دانه گرده بر میزان تنزیدن آزمایش دیگری با محیط کشت فوق ولی فقط با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد انجام گرفت و در این بررسی میزان تنزیدن دانه های گرده بادام انتخابی A-93 در ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از باز شدن گل ارزیابی گردید. نتایج این آزمایش نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی، چهار تیمار و سه تکرار مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مربوط به درصد جوانه زنی دانه گرده بادام رقم انتخابی A-93 در جدول ۲ ارائه شده است ملاحظه می شود که در بین تیمارها اختلاف بسیار معنی دار وجود دارد. بدین معنی که در غلظت های مختلف ساکارز و آگار و همچنین اثرات متقابل آنها به یکدیگر در درصد جوانه زنی گرده دارای اختلاف معنی دار است. بطوریکه از این آزمایش مشخص گردید درصد جوانه زنی دانه گرده در غلظتهای مختلف ساکارز متفاوت است (شکل ۱) و غلظت های کمتر از ۵٪ و بیشتر از ۱۰٪ ساکارز با محیط کشت پایه بر درصد جوانه زنی دانه گرده اثر منفی داشته و این نتایج با نتایج بدست آمده توسط سایر محققان مطابقت دارد (۳ و ۱۱).

درصد جوانه زنی گرده در غلظت های مختلف آگار در



شکل ۱- تاثیر غلظتهای مختلف ساکارز بر درصد جوانه زنی دانه گرده بادام رقم علی بالا

شکل ۲- تاثیر غلظتهای مختلف آگار بر درصد جوانه زنی دانه گرده بادام رقم علی بالا

جدول ۲ - تجزیه واریانس درصد جوانه زنی دانه گرده بادام انتخابی (علی بالا) در محیط های کشت مختلف

منابع تغییر	درجه آزادی (d.f)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (واریانس)	F Valua	Prob
فاکتور A (ساکارز)	۳	۲۲۰۲۰/۷۵	۷۳۴/۲۵۰	۶۷۶/۲۶۱۰	۰/۰۰۰
فاکتور B (آگار)	۳	۵۹۵/۴۱۷	۱۹۸/۴۷۲	۱۸/۸۵۳۰	۰/۰۰۰
فاکتور AxB (ساکارز x آگار)	۹	۱۸۵۰/۷۵۰	۲۰۰/۶۳۹	۱۸/۴۸۵۰	۰/۰۰۰
اشتباه	۳۲	۳۴۷/۳۳۳	۱۰/۸۵۴	-	-
کل	۴۷	۲۴۷۶۹/۲۵۰	-	-	-

جدول ۳ - تاثیر درجه حرارت های مختلف بر درصد جوانه زنی دانه گرده بادام انتخابی A-93 در محیط کشت درون شیشه ای

درصد جوانه زنی	دما C
۵/۲۵ d	۵
۳۳/۳۱ c	۱۰
۸۴/۲۰ b	۱۵
۹۲/۰۰ a	۲۰

** معنی دار به احتمال ۹۹% (P=۰/۰۱)

جدول ۴ - تاثیر سن دانه گرده بر درصد جوانه زنی دانه گرده بادام انتخابی A-93 در محیط کشت درون شیشه ای

درصد جوانه زنی	سن دانه گرده بعد از باز شدن گل بر حسب ساعت
۹۸ a	۶
۸۷ b	۲۴
۳۳ c	۴۸
۵/۱ c	۷۲

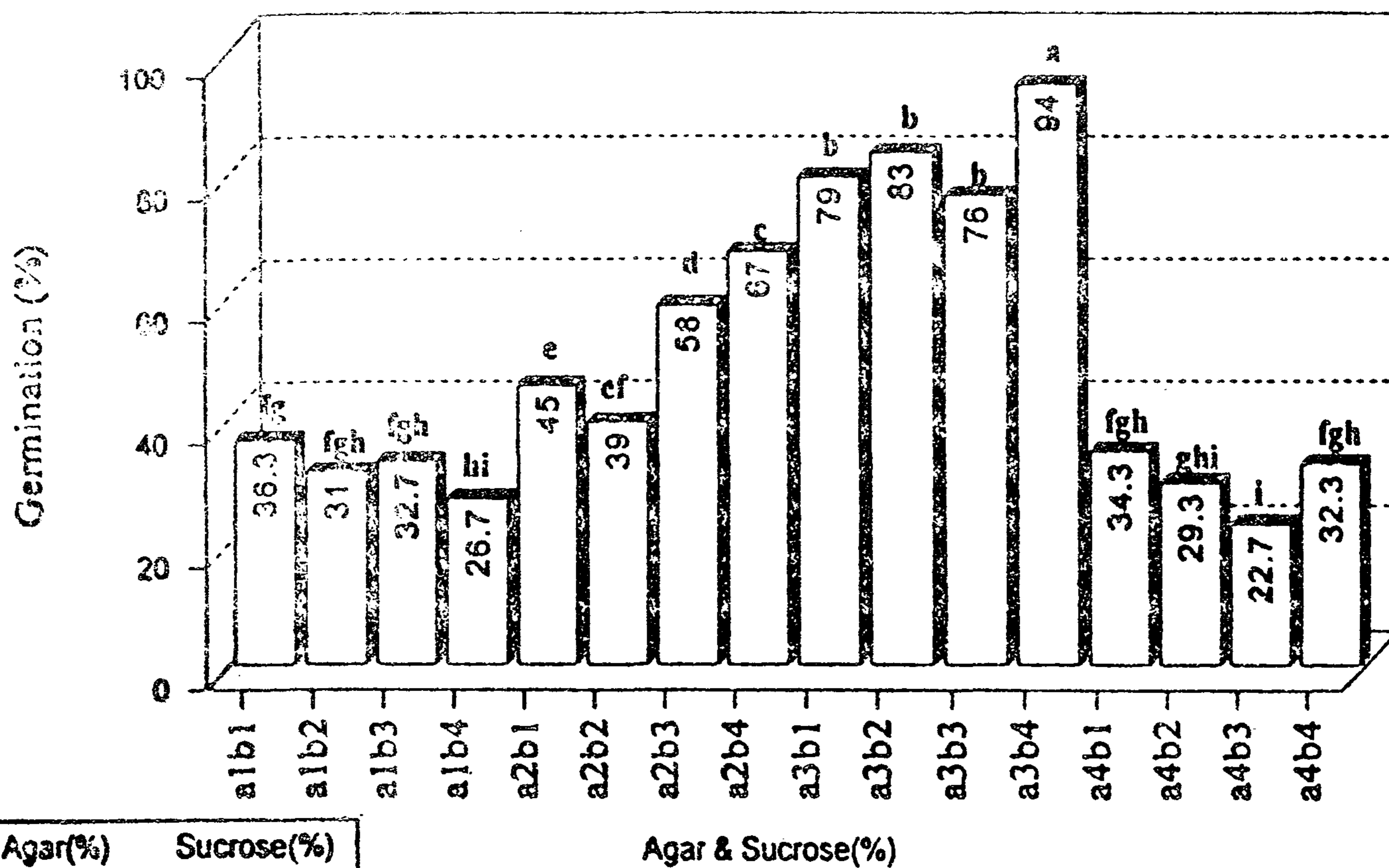
** معنی دار به احتمال ۹۹% (P=۰/۰۱)

گرفته و افزایش درصد جوانه زنی دانه گرده را سبب می شود بدیهی است که برای اعلام نظر قطعی تر تاثیر نور در این پدیده نیاز به آزمایش بیشتری وجود دارد.

از طرفی مشخص گردید که بهترین موقع استفاده از گرده در گرده افشانی کنترل شده ۶ ساعت بعد از باز شدن گل می باشد و در این موقع درصد جوانه زنی دانه گرده در محیط کشت مناسب به بیش از ۹۸% می رسد و این مقدار در روزهای بعد کاهش یافته بطوریکه ۴ روز بعد از باز شدن گل، گرده های گل های باز شده تقریباً "قوه نامیه خود را ازدست می دهند (جدول ۴) بنابراین بهتر است گرده را بلافاصله بعد از باز شدن گلها تهیه نمود و اقدام به عمل گرده افشانی

مصنوعی کرد و یا در انتخاب ترکیب ارقام برای دگر گرده افشانی بایستی دقت شود که "همزمانی در گلدهی" داشته باشند (۶،۴)، (۱۰،۷، ۱۵، ۱۶ و ۱۸).

بهرحال در این آزمایش بهترین محیط کشت برای بررسی درصد جوانه زنی دانه گرده محیط کشت پایه (نیترا کلسیم ۳۰۰ PPM، اسیدبوریك ۱۰۰ PPM، سولفات منیزیم ۲۰۰ PPM، نیترا پتاسیم ۱۰۰ PPM) با ۱۰% ساکارز و ۲% آگار بوده است (شکل ۳). بنابراین در کشت دانه گرده و تعیین قوه نامیه آن زمان تهیه دانه گرده (زمان باز شدن گل)، تهیه محیط کشت مناسب، رعایت بهداشت و وجود شرایط محیطی مناسب لازم است.



شکل ۲. اثر محیط کشت ساکارز و قار (اثر متقابل) بر روی درصد جوانه زنی غده کرده پامام رقم علی باغ

REFERENCES

مراجع مورد استفاده

- ۱ - آمارنامه FAO نشریه ۱۹۹۲.
- ۲ - مرکز آمار ایران (۱۳۷۲). آمارنامه کشاورزی. نشریه شماره ۱۶ انتشارات سازمان برنامه و بودجه.
- 3 - Barnes., D.K. & R.Cleveland , 1972. Inter-relationship of temperature, sugar concentration and pollen on alfalfa germination and tube growth in vitro. Science. 12.796-99.
- 4 - Dhillon, D.S. A.S. Dhatt & R.P.S. Gill 1984. Pollination studeies in almond growing under sub-tropical condations of Punjab. Indian J.Hott 39:190-195.
- 5 - Herraro, M.M. Cambra & A.J.felipe. 1977. Cross Pollination in almond cultivars .Hort.Abstr.48:7827.
- 6 - Kesteer, D.E. & W.H. Giggs. 1959a. Fruit Setting in the almond: the effect of cross Pollinating various percentage of floweres. Proc.Amer.Sco.Hort. Sci.79:206-213.
- 7 - Kester, D.E. & R.Assay 1975 almonds. in :J.Janick and J.N. Moore advances in fruit breeding Purdue univ. Press, west Lafayette, Insiana, PP, 387-4419.
- 8 - Kesteer, D.E. T.M. Gradzi, & W.C. Micke. 1994. Identifying pollen incompatibility groups in california almond cultivars.J.Amer.Soc. Hort.Sci. 119(1):106-109.
- 9 - Ester, D.E. & W.H. Giggs.1969b. Fruit in almond:the pattern of flower and fruit drop-proc. Amer.Soc. Hort Sci, 74:214-219.
- 10- Nauriyal, J.P. & R.S. Rana. 1969. Pollination studies in almond Indian J.Hort, 22:1.9.
- 11- Pimiemta E. V. Polito, & D.E. Kester. 1983. Pollen tube growth in cross and self-pollinated "Nonpareil" almond. J.Amer.Soc. Hort.Sci.108(4):693-697.

- 12- Sociasi company, R.D.E.Kester & M.Bradly. 1979. Effects of temperature and genotype on pollen tube growth in some self incompatible and self compatible almond cultivar. *J.Amr. Soc.Hort.Sci.*101:408-493.
- 13- Socias company R.1990. Breeding self incompatible almond plant *Breeding Reviews*, 8,313-38.
- 14- Tufts, W.P. & G.L. Philp. 1992. almond pollination. *calif. Agr. Bul.* 346:1-36.
- 15- Talaie A & A.Imani. 1995. Selection of the best pollinizer for Late flowering almond varieties *.Hort Science* 30(4):769-770.
- 16- Vasilev, U.N.1972. Flowering and pollination inter- relation ship in certain almond varieties *. Gradinazskai Nauka* 9(4):9-14.
- 17- Vasilakskis, M.D. & I.C. Polingis. 1984. Self-Compatibility in almond and the effect of temperature on selfed and crossed pollen tube growth. *HortScience* :19:659-61.
- 18- Weinbaum, S.A.W.C.Micke & H.C. Meith .1980. Nitrogen fertilization in creased yield without enhancing blossom receptivity in almond *.Hort Science.* 15:78-79.

Effect of Culture-Medium Type and Temperature on Pollen Germination of Almond In vitro

A.IMANI AND A.R.TALAIE

**Student of Ph.D. University of Tarbiat modares, and Associate Professor,
College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran**

Accepted 15 Oct.1997

SUMMARY

Most commercial almond cultivars are self incompatible, therefore cross pollination and fertilization are important factors in production and harvesting a good crop. Since seed is considered as the main product of almond trees, therefore fertilization and viable and compatible pollen play an essential role in this process. To find the effect of culture medium type for pollen germination, four different media were used. This experiment was carried out during 1996 in college of agriculture, university of tarbiat modarres. Results of the experiment indicate that the percentage of pollen germination are widely in different media. The highest germination percentage of pollen (94%) was observed in basic medium with 10% sucrose and 2% agar and the lowest pollen germination (22.68%) was found with 10% sucrose and 1.5% agar (basic medium i.e. Calcium nitrate 100 ppm; Magnesium sulphate 200 ppm; Potassium nitrate 100 ppm). The best temperature for almond pollen germination in early pollen age is 20°C. The pollen age, environmental conditions and the media type are considered of significant effect of pollen germination.