

مطالعه نگهداری، جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده برخی از ارقام مرکبات *
Study of Pollen Storage, Germination and Pollen Tube Growth
of some Citrus Cultivars

نورالله احمدی، کاظم ارزانی و احمد معینی

دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ دریافت: ۱۳۷۹/۳/۱۲

چکیده

احمدی، ن.، ارزانی، ک. و معینی، ا. ۱۳۸۰. مطالعه نگهداری، جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده برخی از ارقام مرکبات. نهال و بذر ۱۷: ۲۱۶-۲۲۹.

با توجه به اهمیت اجرای پروژه‌های به‌نژادی در صنعت مرکبات کشور و لزوم تولید ارقام جدید، پژوهش حاضر به منظور تعیین بهترین روش نگهداری دانه‌های گرده انجام شد. آزمایش به صورت طرح فاکتوریل دو فاکتوره با طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجراء شد. روش‌های نگهداری دانه‌های گرده فاکتور اول را تشکیل می‌دادند. دانه‌های گرده به مدت ۱۵،۷، ۳۰، ۶۰ و ۱۴۰ روز در دمای اتاق ($1^{\circ}\text{C} + 25$)، یخچال (4°C) و فریزر ($18^{\circ}\text{C} -$) نگهداری شدند. فاکتور دوم چهار رقم مرکبات شامل سوینگل سیتروملو، ترویر سسترنج، یوزو و دورگ شل محله بود. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار روش‌های نگهداری، رقم و اثر متقابل این دو فاکتور در سطح ۱٪ معنی‌دار هستند. شاهد (دانه‌های گرده تازه) و دانه‌های گرده‌ای که به مدت ۷ روز در فریزر نگهداری شده بودند به ترتیب با ۳۸/۷۷٪ و ۲۶/۹۳٪ بیشترین جوانه‌زنی را داشتند و به ترتیب در کلاس‌های a و b قرار گرفتند. از میان ارقام مورد مطالعه، ارقام شل محله و یوزو به ترتیب با ۱۸/۹۴٪ و ۱۵/۴۹٪ بیشترین جوانه‌زنی را داشتند و در کلاس‌های a و b قرار گرفتند. همچنین اثر متقابل شاهد x شل محله، شاهد x یوزو، ۱۵ روز نگهداری در فریزر x یوزو و ۷ روز نگهداری در فریزر x شل محله، به ترتیب با ۵۰٪، ۴۶٪، ۴۲/۶۶٪ و ۳۶/۱۶٪ بیشترین جوانه‌زنی را داشتند و به ترتیب در کلاس‌های a، b، c و d قرار گرفتند. نتایج نشان داد که دانه‌های گرده رقم شل محله حتی بعد از ۱۴۰ روز نگهداری در فریزر، ۲۲/۲٪ جوانه‌زنی داشتند. این میزان

* قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد. نگارنده اول که به گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ارائه شده است.

جوانه‌زنی با توجه به حساسیت دانه‌های گرده مرکبات برای نگهداری طولانی مدت می‌تواند در برنامه‌های تلاقی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار باشند.

واژه‌های کلیدی: مرکبات، ارقام، نگهداری دانه‌گرده.

مقدمه

یکی از مهم‌ترین روش‌های حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی گیاهی، نگهداری دانه‌گرده است (Bajaj, 1987). حفظ قوه نامیه دانه‌گرده به منظور حذف مشکل زمان و مکان در گرده‌افشانی مصنوعی مورد توجه قرار گرفته است (Khosh-Khui *et al.*, 1976). به نژادی مرکبات اغلب با موانعی مانند چند جنینی، نازایی، عدم هم‌زمانی دوره‌های گلدهی و تمایل درختان برای سال آوری مواجه است، لذا برای اجرای برنامه‌های به نژادی در مرکبات از طریق تلاقی، نگهداری دانه‌گرده برای مدت طولانی غیر قابل اجتناب و امری ضروری است. از دانه‌گرده نارنج سه برگ (Poncirus trifoliata) به طور گسترده به عنوان والد نر استفاده می‌شود و از ارقام دیگر گل همانند Citrus nobilis علی‌رغم تعداد کم نتایج از طریق جنسی، عمدتاً به عنوان والد مادری استفاده می‌گردد (Sahar and Spiegel-Roy, 1980; Ganeshan and Sulladmath, 1983).

حفظ توانایی جوانه‌زنی دانه‌گرده به شرایط نگهداری آن مثل رطوبت نسبی، دما، گازهای اتمسفر و فشار هوای انبار بستگی دارد (Linskens, 1964; Ranhawa *et al.*, 1962; Snope and Ellison, 1963).

رطوبت هوای انبار اثر تعیین‌کننده‌ای روی طول عمر گرده دارد و گونه‌های مختلف به رطوبت‌های نسبی متفاوتی نیاز دارند. گرده بیشتر گونه‌ها در رطوبت نسبی پایین قوه نامیه خود را بهتر حفظ می‌کنند. توصیه رطوبت نسبی مشخصی برای نگهداری گرده‌گونه‌های مختلف مشکل است (Linskens, 1964).

Ganeshan and Sulladmath (1983) نگهداری موفقیت‌آمیز دانه‌گرده مرکبات در دمای 5°C و رطوبت نسبی ۲۰ تا ۳۰ درصد را گزارش کرد. محققین دریافتند که قوه نامیه دانه‌گرده می‌تواند در دمای زیر صفر درجه سانتی‌گراد بدون کنترل رطوبت حفظ شود که این وضعیت مناسب‌تر یا حتی بهتر از دماهای بالاتر از صفر درجه سانتی‌گراد و رطوبت کنترل شده می‌باشد (Snope and Ellison, 1963; Ganeshan and Sulladmath, 1983; Sahar and Spiegel-Roy, 1980). نتایج خوبی از نگهداری گرده مرکبات در دمای 5°C به دست آوردند ولی در آزمایش‌های آنها دانه‌های گرده پرتقال شموطی بعد از ۲ هفته و گرده‌های نارنج سه برگ (Poncirus trifoliata) بعد از ۴ هفته قوه نامیه خود را از دست دادند.

افزایش درصد دی‌اکسید کربن در اتمسفر انبار، همانند زمانی که گرده روی یخ خشک

تحقیقات مرکبات کترا از توابع شهرستان تنکابن جمع آوری گردید. برای جمع آوری دانه گرده، بین ساعت ۱۰-۸ صبح جوانه‌های گل‌هایی که کاملاً متورم و آماده شکوفائی بودند جمع آوری شدند و پس از جدا کردن بساک‌ها از میله پرچم، بساک‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون دسیکاتور حاوی کلریدکلسیم قرار گرفتند و به آزمایشگاه منتقل شدند. گرده‌ها به وسیله قلم موی نرم بر روی سطح تشتک پتری حاوی محیط کشت پاشیده شدند. بلافاصله تشتک‌های پتری به وسیله پارافیلم درزبندی شده و در دمای اتاق ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) قرار گرفتند. محیط کشت مورد استفاده در این آزمون از ۱٪ آگار، ۱۵٪ ساکارز، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید بوریک، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات منیزیم، ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کلسیم و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم تشکیل شده بود. این ترکیب قبلاً به وسیله سحر و اشپیگل روی (Sahar and Spiegel-Roy, 1980) برای جوانه‌زنی دانه گرده مرکبات استفاده شده بود. در طول مدت ۲۴ ساعت و به فواصل زمانی ۲ ساعت ۳ عدد تشتک پتری از هر رقم با اضافه کردن ۵ cc / ۰ اسید استیک ۴۵٪ تثبیت گردیدند و درصد جوانه‌زنی به وسیله میکروسکوپ مجهز به عدسی شیئی با بزرگنمایی ۱۰ برابر تعیین گردید. در ۸ میدان دید که به طور تصادفی انتخاب می‌شدند، درصد جوانه‌زنی روی ۴۰۰ عدد دانه گرده تعیین شد. دانه گرده‌ای جوانه زده محسوب شد که طول لوله گرده آن برابر یا بیشتر از قطر دانه گرده بود.

طول لوله گرده با استفاده از یک صفحه

نگهداری می‌شود، طول عمر گرده را افزایش می‌دهد. نگهداری گرده در اکسیژن خالص قوه نامیه را کاهش می‌دهد (Linskens, 1964) با جایگزین کردن نیتروژن یا CO_2 به جای اتمسفر معمولی انبار، دوره نگهداری قوه نامیه گرده نارنگی کلماتین تا ۲۷ هفته افزایش یافت و نگهداری در دمای 4°C به همراه اتمسفر نیتروژن بهتر از نگهداری در اتمسفر CO_2 بود. (Sahar and Spiegel-Roy, 1980). عمر انباری گرده مرکبات در اتمسفر عاری از اکسیژن همراه با دمای پایین (18°C) افزایش می‌یابد. (Ganeshan and Sulladmath, 1983).

با توجه به اهمیت حفظ ذخایر ژنتیکی و تسهیل عملیات دورگ‌گیری، هدف از پژوهش حاضر تعیین مناسب‌ترین روش و مدت نگهداری دانه گرده برخی از ارقام مرکبات و همچنین ترسیم منحنی جوانه‌زنی و رشد لوله گرده در شرایط آزمایشگاه (*in-vitro*) بوده است که طی دو آزمایش جداگانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول:

این آزمون به منظور ارزیابی زمان مناسب برای برآورد درصد جوانه زنی دانه‌های گرده تازه (Fresh) ارقام نارنج، یوزو، ترویر، سیتروملو و شل محله انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو فاکتوره با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول (A) را زمان و فاکتور دوم (B) را رقم تشکیل می‌داد.

دانه‌های گرده از درختان بالغ ایستگاه

سیتروملو، ترویر سیترنج، یوزو و شل محله در آزمایشگاه گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد.

آزمایش به صورت طرح فاکتوریل دو فاکتوره با طرح پایه کاملاً تصادفی و ۳ تکرار اجراء شد. فاکتور اول (A) را تیمارهای نگهداری (جدول ۱) و فاکتور دوم (B) را ارقام فوق الذکر تشکیل می‌دادند.

شیشه‌ای مدرج میکرومتری که در عدسی چشمی قرار داشت اندازه‌گیری شد. در هر تشک پتری طول ۲۰ لوله‌گرفته به طور تصادفی اندازه‌گیری شد و میانگین آن‌ها به عنوان طول لوله‌گرفته هر تشک منظور گردید.

آزمایش دوم:

این آزمایش به منظور تعیین مناسب‌ترین روش و مدت زمان نگهداری دانه‌گرفته ارقام سوینگل

جدول ۱ - مشخصات تیمارهای نگهداری دانه‌گرفته

Table 1. Pollen storage treatments

تیمار	مدت زمان و روش نگهداری	تیمار	مدت زمان و روش نگهداری
Treatment	Duration and method of storage	Treatment	Duration and method of storage
A1	شاهد(بدون اعمال تیمار) Control(Fresh Pollen)	A9	یخچال - ۳۰ روز Refrigerator - 30 days
A2	دمای اتاق - ۷ روز Room temp. - 7 days	A10	فریزر - ۳۰ روز Freezer - 30 days
A3	یخچال - ۷ روز Refrigerator - 7 days	A11	دمای اتاق - ۶۰ روز Room temp.- 60 days
A4	فریزر - ۷ روز Freezer - 7 days	A12	یخچال - ۶۰ روز Refrigerator - 60 days
A5	دمای اتاق - ۱۵ روز Room temp. - 15 days	A13	فریزر - ۶۰ روز Freezer - 60 days
A6	یخچال - ۱۵ روز Refrigerator - 15 days	A14	دمای اتاق - ۱۴۰ روز Room twmp. - 140 days
A7	فریزر - ۱۵ روز Freezer - 15 days	A15	یخچال - ۱۴۰ روز Refrigerator - 140 days
A8	دمای اتاق - ۳۰ روز Room temp. - 30 days	A16	فریزر - ۱۴۰ روز Freezer - 140 days

آزمایش اول تعیین گردید. در هر دو آزمایش برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار MSTATC استفاده گردید. با توجه به این که داده‌ها به صورت درصد بیان می‌شدند لذا قبل از آنالیز توسط Arcsin نرمال شدند و از آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول:

جدول ۲، تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی آزمون تعیین زمان مناسب برای شمارش و برآورد درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده را نشان می‌دهد. با توجه به این جدول، اختلاف جوانه‌زنی در زمان‌های مختلف معنی‌دار بود. اثر زمان، رقم و اثر متقابل آن‌ها نیز معنی‌دار بود. بدین معنی که بین میزان رشد‌گرده در ساعات مختلف و ارقام

پس از انتقال دانه‌های گرده به آزمایشگاه، گرده‌ها درون شیشه‌های مخصوص قرار گرفتند و تیمارها بر روی آن‌ها اعمال شدند. در تیمار یخچال شیشه‌های حاوی دانه‌گرده درون دسیکاتور قرار گرفتند و در سایر تیمارها شیشه‌های حاوی دانه‌گرده مستقیماً در فریزر و یا دمای اتاق قرار گرفتند. همزمان با شروع اعمال تیمارها، میزان جوانه‌زنی دانه‌گرده هر رقم روی پلیت آگار تعیین گردید. پس از گذشت ۷، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۱۴۰ روز، درصد جوانه‌زنی هر تیمار و رقم تعیین گردید. دانه‌های گرده به وسیله قلم موی نرم روی محیط کشت پاشیده شدند و تشتک‌ها به وسیله پارافیلیم درزبندی و در دمای اتاق ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) قرار داده شدند. پس از ۱۸ ساعت انکوباسیون، $0.5/0$ اسید استیک ۴۵٪ به هر تشتک اضافه گردید و سپس درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده همانند

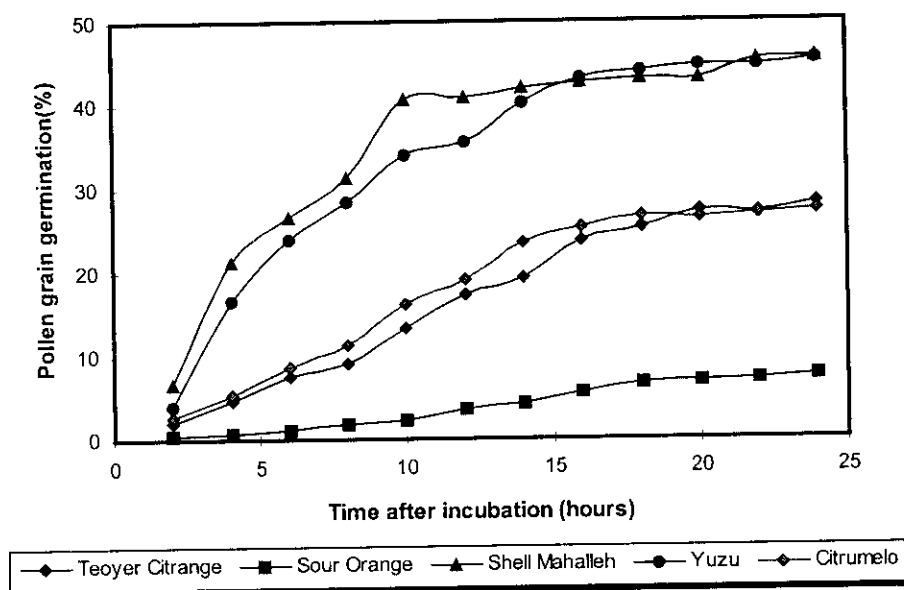
جدول ۲ - تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی آزمون تعیین زمان مناسب برای شمارش و برآورد درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده

Table 2. Analysis of variance on percentage of germination and tube growth of fresh pollens for determination of optimum time to evaluate pollen germination

S.O.V.	منابع تغییرات	df	میانگین مربعات	
			Pollen tube length	Pollen germination(%)
Time	زمان	11	240668.16**	834.54**
Cultivar	رقم	4	36669.22**	3807.75**
Time x Cultivar	زمان x رقم	44	2614.32**	18.26**
Error	خطا	120	142.98	0.748
C.V.			4.3%	5.08%

** Significant at 1% level.

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.



شکل ۱ - جوانه‌زنی درون شیشه‌ای دانه‌گرده برخی از ارقام مرکبات طی ۲۴ ساعت انکوباسیون

Fig. 1. *In vitro* pollen germination test on pollen grains of some citrus cultivars during 24 hours of incubation

(۱۰/۷۸٪) داشته‌اند. در آزمایش‌های سحر و اشپیگل روی (Sahar and Spiegel-Roy 1980) دانه‌گرده نارنگی کلیمانتین بعد از ۱۴ ساعت و دانه‌گرده نارنج سه برگ بعد از ۱۸ ساعت به حداکثر جوانه‌زنی رسیدند. تأخیر در جوانه‌زنی به علت فاصله زمان بین آبیگری و آغاز رشد لوله‌گرده می‌باشد و طول این مرحله از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است. بنابراین زمان ۱۸ ساعت پس از انکوباسیون، زمان مناسب در آزمایش‌های جوانه‌زنی درون شیشه‌ای مرکبات به منظور شمارش دانه‌گرده جوانه‌زده می‌باشد. در طی ۲۴ ساعت رشد لوله‌گرده ادامه داشت، هر چند که میانگین طول لوله‌گرده ارقام ترویر و نارنج در زمان‌های ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ ساعت پس از

مختلف از نظر آماری اختلاف وجود دارد. با افزایش زمان، طول لوله‌گرده افزایش یافت، به طوری‌که حداقل و حداکثر طول لوله‌گرده به ترتیب بعد از ۲ و ۲۴ ساعت انکوباسیون دانه‌گرده به دست آمد. رقم یوزو بیشترین و رقم سیتروملو کمترین طول لوله‌گرده را داشتند.

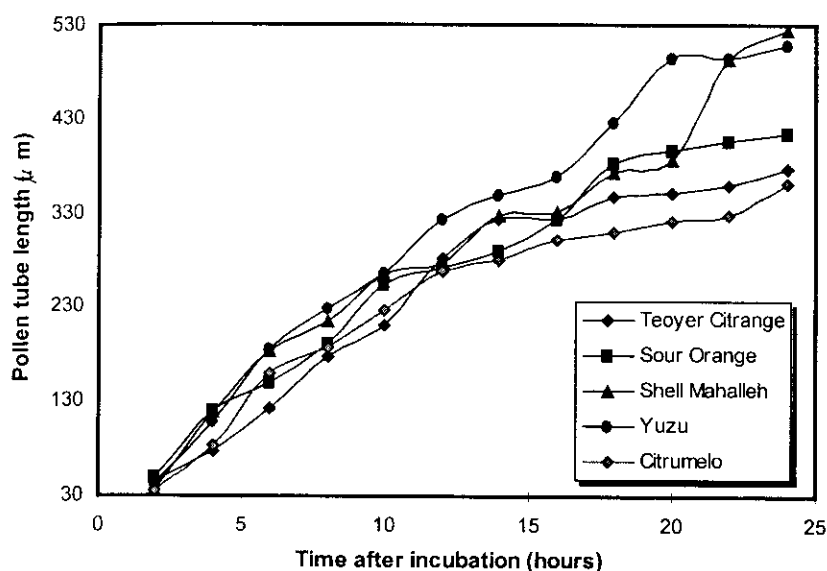
با توجه به شکل ۱ ملاحظه می‌شود که درصد جوانه‌زنی‌گرده به موازات زمان سیر صعودی داشته است و این سیر صعودی تا ۱۸ ساعت پس از انکوباسیون‌گرده ادامه پیدا کرده ولی پس از آن اختلافی بین میانگین جوانه‌زنی ساعات بعد وجود نداشت. در طی ۲۴ ساعت، بیشترین درصد جوانه‌زنی را دانه‌های گرده شل محله (۴۶/۲۵٪) و کمترین درصد جوانه‌زنی را دانه‌های گرده نارنج

و دانه‌های گرده‌ای که به مدت ۷ روز در فریزر نگهداری شده بودند به ترتیب با ۳۸/۷۷٪ و ۲۶/۹۳٪ بیشترین جوانه‌زنی را داشتند و به ترتیب در کلاس‌های a و b قرار گرفتند (جدول ۴). از میان ارقام مورد مطالعه، ارقام شل محله و یوزو به ترتیب با ۱۸/۹۴٪ و ۱۵/۹۴٪ بیشترین جوانه‌زنی را داشتند و در کلاس‌های a و b قرار گرفتند (جدول ۵). همچنین اثر متقابل شاهد x شل محله، شاهد x یوزو، ۱۵ روز نگهداری در فریزر x یوزو و ۷ روز نگهداری در فریزر x شل محله به ترتیب با ۵۰٪، ۴۶٪، ۴۲٪ و ۳۶/۱۶٪ بیشترین جوانه‌زنی را داشتند و در کلاس‌های d, c, b و a قرار گرفتند (جدول ۶).

انکوباسیون اختلاف آماری نداشتند. با توجه به شکل ۲ مشاهده می‌شود که بلندترین طول لوله گرده بعد از ۲۴ ساعت و کوتاه‌ترین طول بعد از ۲ ساعت متعلق به دانه گرده شل محله است. افزایش طول لوله گرده تمامی ارقام در طی مدت زمان ۱۲ ساعت سریع بود و پس از آن سرعت افزایش طول لوله گرده کند گردید.

آزمایش دوم:

تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده بعد از نگهداری آن‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است. این جدول نشان می‌دهد که اثر تیمارهای نگهداری، رقم و اثر متقابل آن‌ها در سطح ۱٪ معنی‌دار است (دانه‌های گرده تازه)



شکل ۲ - رشد طولی لوله گرده برخی از ارقام مرکبات در شرایط درون شیشه‌ای

Fig. 2. *In-vitro* tube growth of pollen grains of citrus cultivars

جدول ۳ - تجزیه واریانس درصد جوانه زنی دانه گرده بعد از نگهداری

Table 3. Analysis of variance on percentage of pollen germination after storage

S.O.V.	میانگین مربعات		df	M.S.
	منابع تغییرات	درجه آزادی		
Treatment	تیمار	15	697.11**	
Cultivar	رقم	3	852.38**	
Treatment x Cultivar	تیمار x رقم	45	68.89**	
Error	خطا	128	1.75	
C.V.			2.52%	

** معنی دار در سطح احتمال ۱٪. ** Significant at 1% probability level.

می شود که منحنی مربوط به تیمار فریزر ابتدا سیر نزولی (تا روز هفتم) و سپس سیر صعودی (تا روز پانزدهم) داشته است.

شکل ۶ وضعیت نگهداری گرده رقم شل محله را نشان می دهد. نگهداری در دمای اتاق سیر نزولی را موجب گردید به طوری که پس از گذشت ۶۰ روز، جوانه زنی به صفر رسید. تیمار یخچال ابتدا سبب کاهش و سپس سبب افزایش جوانه زنی گردید. پس از آن قوه نامیه گرده با سرعت بطئی کاهش یافت به طوری که ۱۴۰ روز پس از نگهداری به ۲/۱۶٪ رسید. نگهداری در فریزر باعث کاهش نسبتاً سریع قوه نامیه تا روز پانزدهم گردید و سپس از دست رفتن قوه نامیه، سرعت کندتری به خود گرفت. نتایج نشان داد که دانه های گرده رقم شل محله حتی بعد از ۱۴۰ روز نگهداری در فریزر ۲/۲۲٪ جوانه زنی داشتند. این میزان جوانه زنی با توجه به حساسیت دانه های گرده مرکبات برای نگهداری طولانی مدت می تواند در برنامه های دورگ گیری از اهمیت

شکل ۳ نشان می دهد که درصد جوانه زنی دانه گرده سیتروملو نگهداری شده در دمای اتاق، یخچال و فریزر بعد از گذشت ۱۵ روز به ترتیب صفر، ۶٪ و ۱۲/۶٪ است. دانه های گرده در فریزر، طی ۱۵ روز کاهش سریعی در قوه نامیه نشان دادند و سپس کاهش قوه نامیه کندتر گردید. با توجه به شکل ۴، قوه نامیه دانه گرده ترویر پس از ۷ روز نگهداری در دمای اتاق به صفر رسید. کاهش قوه نامیه دانه گرده تیمار فریزر ابتدا سریع بود و از روز پانزدهم به بعد از دست رفتن قوه نامیه بطئی بود. دانه های گرده در دمای اتاق پس از هفت روز و دانه های گرده درون یخچال و فریزر پس از ۱۴۰ روز قوه نامیه خود را از دست دادند.

شکل ۵ بیانگر این است که دانه های گرده یوزو در یخچال و فریزر پس از گذشت ۱۴۰ روز به ترتیب ۱/۳٪ و ۹/۵٪ قدرت جوانه زنی را حفظ کردند و پس از ۳۰ روز نگهداری در دمای اتاق جوانه زنی به صفر رسید. در این شکل مشاهده

جدول ۴ - مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی تیمارهای نگهداری دانه گرده
با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Table 4. Comparison of mean percentage of pollen grain germination in storage treatments using Duncan's Multiple Range Test

Treatment	تیمار	میانگین درصد جوانه‌زنی Mean pollen germination (%)
Control	شاهد	38.77a
Room- 7 days	دمای اتاق - ۷ روز	14.18 e
Refrigerator- 7 days	یخچال - ۷ روز	12.16 f
Freezer- 7 days	فریزر - ۷ روز	26.93 b
Room- 15 days	دمای اتاق - ۱۵ روز	8.64 g
Refrigerator- 15 days	یخچال - ۱۵ روز	12.43 ef
Freezer- 15 days	فریزر - ۱۵ روز	22.93 c
Room- 30 days	دمای اتاق - ۳۰ روز	2.52 h
Refrigerator- 30 days	یخچال - ۳۰ روز	6.33 g
Freezer- 30 days	فریزر - ۳۰ روز	17.39 d
Room- 60 days	دمای اتاق - ۶۰ روز	0.00 h
Refrigerator - 60 days	یخچال - ۶۰ روز	2.45 h
Freezer - 60 days	فریزر - ۶۰ روز	18.64 d
Room- 140 days	دمای اتاق - ۱۴۰ روز	0.00 h
Refrigerator 140 days	یخچال - ۱۴۰ روز	0.87 h
Freezer- 140 days	فریزر - ۱۴۰ روز	8.63 g

میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with similar letters, are not significantly different at 1% level.

ویژه‌ای برخوردار باشد. نامیه دانه گرده شد. برای نگهداری کوتاه مدت گرده یوزو و شل محله، دمای اتاق بهتر از نگهداری در یخچال بود. کاهش قوه نامیه در دمای ۴°C به وسیله گانسان و سولادمات (Ganeshan and Sulladmath, 1983) نیز با توجه به شکل‌های ۳، ۴، ۵ و ۶ در بین روش‌های بررسی شده، نگهداری دانه گرده مرکبات در فریزر (۱۸°C-) مناسب‌تر بود. نگهداری در دمای اتاق سبب کاهش سریع قوه

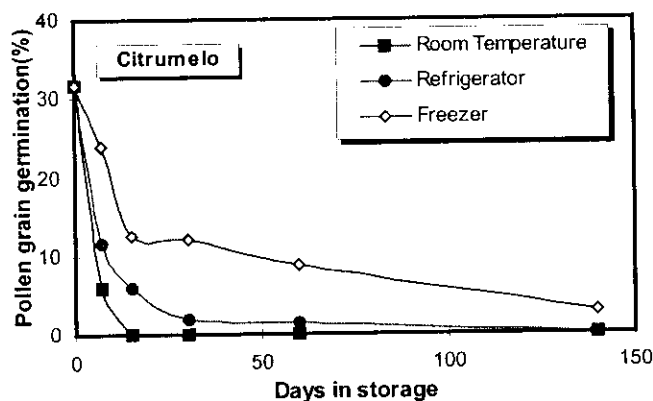
جدول ۵ - مقایسه میانگین درصد جوانه زنی دانه گرده نگهداری شده ارقام مرکبات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Table 5. Comparison of mean percentage of pollen germination of citrus cultivars in various pollen storage methods using Duncan's Multiple Range Test

Treatment(Cultivar)	تیمار(رقم)	میانگین درصد جوانه زنی Mean pollen germination(%)
Citromelo	سیتروملو	7.45 c
Troyer	نروبر	6.34 c
Yuzu	یوزو	15.49 b
Shell Mahalleh	شل محله	18.94 a

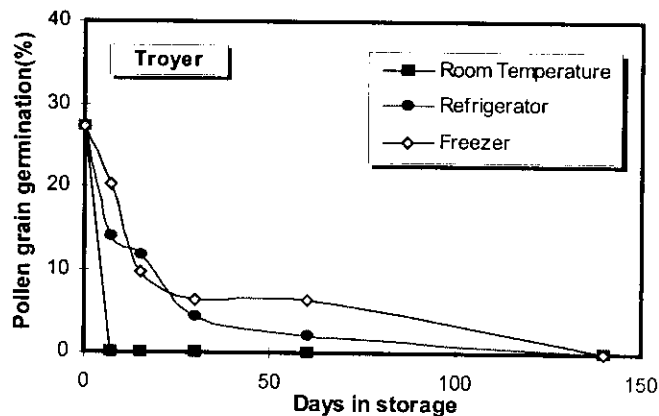
میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with similar letters, are not significantly different at 1% level.



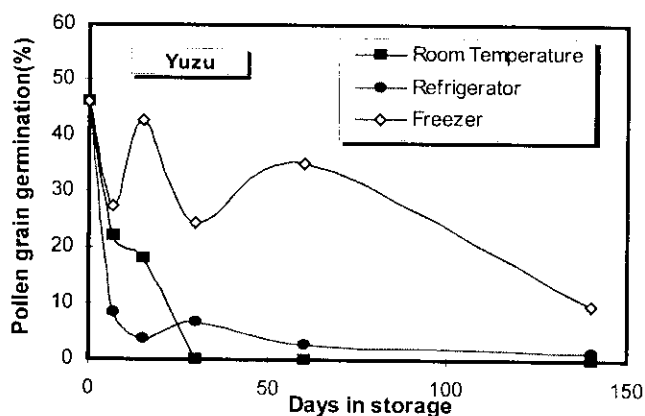
شکل ۳- درصد جوانه‌زنی دانه گرده رقم سیتروملو نگهداری شده در دمای اتاق ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)، یخچال ($+4^\circ\text{C}$) و فریزر (-18°C)

Fig. 3. Effect of storage at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), refrigerator ($+4^\circ\text{C}$) and freezer (-18°C) on Citromelo pollen germination



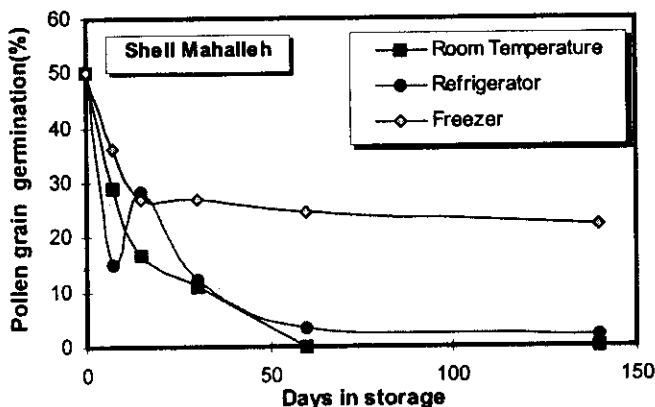
شکل ۴ - درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده رقم ترویر نگهداری شده در دمای اتاق ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)، یخچال ($+4^\circ\text{C}$) و فریزر (-18°C)

Fig. 4. Effect of storage at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), refrigerator ($+4^\circ\text{C}$) and freezer (-18°C) on Troyer pollen germination



شکل ۵ - درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده رقم یوزو نگهداری شده در دمای اتاق ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)، یخچال ($+4^\circ\text{C}$) و فریزر (-18°C)

Fig. 5. Effect of storage at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), refrigerator ($+4^\circ\text{C}$) and freezer (-18°C) on Yuzu pollen germination



شکل ۶ - درصد جوانه‌زنی دانه گرده رقم شل محله نگهداری شده در دمای اتاق ($25 \pm 1^\circ\text{C}$)، یخچال ($+4^\circ\text{C}$) و فریزر (-18°C)

Fig. 6. Effect of storage at room temperature ($25 \pm 1^\circ\text{C}$), refrigerator ($+4^\circ\text{C}$) and freezer (-18°C) on Shell Mahalleh pollen germination

آن را کاهش می‌دهد. از دست رفتن قوه نامیه احتمالاً ناشی از تغییرات همزمان در ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، سرعت تنفس و فعالیت هورمون‌های درونی می‌باشد. افزایش طول عمر دانه گرده در دماهای زیر صفر درجه سانتی‌گراد به کاهش سرعت تنفس و عدم مصرف سریع اندوخته غذایی دانه گرده نسبت داده می‌شود. همچنین خشک شدن، سبب تغییرات ساختمانی شدید در غشاءهای دانه گرده می‌شود و نفوذپذیری پلاسما را تغییر می‌دهد. در شکل‌های ۵ و ۶ مشاهده گردید که گرده ارقام یوزو و شل محله نگهداری شده در فریزر و یخچال پانزده روز پس از نگهداری افزایش جوانه‌زنی نشان دادند. رقم یوزو مجدداً ۶۰ روز

گزارش گردیده است. نتایج این تحقیق گزارش‌های سحر و اشپیکل - روی (Sahar and Spiegel-Roy, 1980) را مبنی بر افزایش طول عمر دانه گرده مرکبات در دمای -18°C تأیید می‌کند. با توجه به نظر لینسکنز (Linskens, 1964)، از دست رفتن قوه نامیه گرده‌های نگهداری شده در دمای اتاق به علت از دست دادن سریع آب می‌باشد. همچنان که آب درونی گرده‌ها کاهش می‌یابد فرآیندهای متابولیکی شدیداً متوقف می‌گردد و تنفس کاهش می‌یابد. همچنین خشک شدن پروتئین‌ها فعالیت آنزیمی را کاهش می‌دهد. در گرده‌های سه هفته‌ای خشک شدن دانه گرده به هسته زایشی آسیب می‌رساند و قوه نامیه

جدول ۶ - اثر متقابل بین شرایط نگهداری دانه گرده با ارقام مرکبات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Table 6. Interaction between methods of pollen storage and citrus cultivars using Duncan's Multiple Range Test

Storage methods x cultivar		شرایط نگهداری x ارقام	میانگین درصد جوانه زنی Mean pollen germination (%)
Control x Shell Mahalleh		شاهد x شل محله	50 a
Control x Yuzu		شاهد x یوزو	46 b
15 days in freezer x Yuzu		۱۵ روز فریزر x یوزو	42.66 c
7 days in freezer x Shell Mahalleh		۷ روز فریزر x شل محله	36.16 d

میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means with similar letters, are not significantly different at 1% level.

نابالغ بوده‌اند و در این مدت زمان دانه‌های گرده بالغ گردیده و درصد جوانه زنی دانه گرده افزایش یافته است (Khosh-Khui *et al.*, 1976).
با توجه به نتایج پژوهش حاضر، مناسب‌ترین روش نگهداری دانه گرده مرکبات استفاده از فریزر می‌باشد و از نگهداری گرده در یخچال بدون استفاده از دسیکاتور می‌بایست اجتناب شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای مهندس یونس ابراهیمی به خاطر راهنمایی و مساعدت در جهت انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

پس از نگهداری نیز افزایش جوانه‌زنی نشان داد. پدیده مشابهی در نگهداری دانه گرده انگور توسط راندهوا و همکاران (Randhawa *et al.*, 1976) و در نگهداری دانه گرده رز به وسیله خوشخوی و همکاران (Kosh-Khui *et al.*, 1976) گزارش گردیده است. در مطالعات سحر و اشپیگل روی (Sahar and Spiegel-Roy, 1980) بر روی دانه گرده مرکبات نیز چنین پدیده‌ای رخ داده است. افزایش جوانه‌زنی بعد از نگهداری دانه گرده ممکن است در اثر افزایش یا آزادسازی آنزیم‌های درونی باشد (Randhawa *et al.*, 1976). این احتمال نیز وجود دارد که زمان شروع آزمایش دانه‌های گرده

References

- Bajaj, Y.P.S. 1987. Cryopreservation of potato germplasm pp: 471-486. In: Bajaj, Y.P.S. (ed.) Biotechnology in Agriculture and Forestry: Potato. Vol. 3. Springer Verlag, Berlin

Heidelberg.

- Ganeshan, S., and Sulladmath, V.V. 1983. Pollen storage studies on *Citrus limon* Burm. Varietal difference and influence of flower type. Gartenbauwissenschaft 48: 51-54
- Khosh-Khui, M., Bassiri, A., and Niknejad, M. 1976. Effect of temperature and humidity on pollen viability of six rose species. Cadaan Journal of Plant Sciences 56: 517-523.
- Linskens, H.F. 1964. Pollen Physiology and Fertilization. North-Holland Publishing Company.
- Randhaws, G.S., Agarwal, P.K., and Singh, R. 1962. Pollen storage studies in grape. I. Effect of different humidity regimes on viability. Indian Journal of Horticulture 39: 24-28.
- Sahar, N., and Spiegel-Roy, P. 1980. Citrus pollen storage. HortScience 15: 81-82.
- Snope, A.J., and Ellison, J.H. 1963. Storage of asparagus pollen under various condition temperature, humidity and pressure. American Society of Horticultural Science 83: 447-452.

آدرس نگارندگان:

نوراله احمدی و کاظم ارزانی - گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
احمد معینی - گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.