

اثر محلول پاشی عنصر روی بر روند رشد لوله گرده در مادگی چند رقم سیب

سکینه فلاح معافی^۱ و یاور شرفی^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میوه کاری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- *نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (y.sharafi@shahed.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۰۶

چکیده

بیشتر ارقام سیب خودناسازگار بوده و برای تشکیل میوه نیازمند به دگر گرده افشانی می باشند. عنصر روی یکی از عوامل تأثیرگذار در جوانه زنی دانه گرده روی کلاله است و از این طریق باعث افزایش تشکیل میوه می شود. در این پژوهش اثر محلول پاشی روی با سه غلظت صفر، ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر بر روی جوانه های گل چهار رقم فوجی، گلدن دلشز، رد دلشز و کالا بررسی و تأثیر این عنصر بر درصد جوانه زنی و روند رشد لوله گرده در مادگی های حاصل از تلاقی های چهار رقم در دو زمان ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از گرده افشانی با میکروسکوپ فلورسنت مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش در سال ۱۳۹۳ در باغ تحقیقاتی دانشگاه شاهد، تهران انجام شد. نتایج نشان داد که اثر عنصر روی بر درصد جوانه زنی در سطح کلاله و میزان نفوذ لوله های گرده در قسمت ابتدا خامه، میانه خامه و تخمدان در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. هم چنین، بیشترین درصد جوانه زنی در ترکیب تلاقی ارقام Golden Delicious × Gala با تیمار ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر روی و در زمان ۱۲۰ ساعت با درصد جوانه زنی ۵۹/۴۰ درصد در سطح کلاله مشاهده شد و بیشترین نفوذ لوله گرده به قسمت ابتدایی تخمدان با ۱۸/۰۸ درصد در ترکیب تلاقی Gala × Fuji در زمان ۱۲۰ ساعت و با تیمار ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر روی به دست آمد. در مجموع محلول پاشی عنصر روی باعث افزایش درصد جوانه زنی و میزان رشد لوله گرده شد.

کلید واژه ها: تلاقی، تخمدان، جوانه زنی دانه گرده، میکروسکوپ فلورسنت

مقدمه

سیب با نام علمی *Malus Domestica* متعلق به خانواده گل سرخیان^۱ بوده و یکی از مهم ترین محصولات باغی ایران می باشد. بیشتر ارقام سیب دارای سیستم خودناسازگاری بوده و برای تشکیل میوه نیازمند به دگر گرده افشانی هستند (Broothaerts and Van Nerum, 2002).

جوانه زنی گرده روی کلاله اولین مرحله لقاح و تشکیل میوه می باشد که این عمل بعد از تماس پیدا کردن دانه گرده سازگار با سطح کلاله رخ می دهد (Sedgley, 1990).

شرایط فیزیولوژیکی درختان گرده زها به شدت تحت تأثیر تغذیه با عناصر معدنی بوده و روی کیفیت گرده درصد جوانه زنی، قدرت زنده مانگی و سرعت رشد لوله گرده تأثیرگذار می باشد. در مطالعات مختلفی که با کاربرد محلول پاشی عناصر ریز مغذی از جمله روی بر گل های درختان میوه صورت گرفته، مشاهده شده که این عناصر دارای تأثیرات مثبتی در تشکیل میوه و بهبود و عملکرد آن داشته اند که دلایل آن را داشتن نقش مثبت این عنصر بر درصد جوانه زنی گرده دانسته اند (Ahmed et al., 2002).

در سال هایی که در زمان گلدهی شرایط آب و هوایی نامناسب می باشد رشد لوله گرده کند شده و یا

(Hippis and Davies, 2000). بر اساس مطالعات صورت گرفته زمان بندی مطلوب برای تأثیر گذاری محلول پاشی روی در تشکیل میوه دو تا سه هفته پیش از گلدهی می باشد (Ahmed *et al.*, 2002).

Yoder *et al.* (2009) اثر دما، جوهر لیمو و روغن ماهی را روی روند رشد و نغذ لوله گرده در سیب بررسی نمودند. هم چنین، مطالعه روند رشد لوله گرده در مادگی سیب با میکروسکوپ فلورسنت نشان داد میزان ترکیب گلیکوپروتئین کلالة و خامه متفاوت بود. هم چنین، سرعت رشد لوله گرده در کلالة آهسته تر و اتوتروف بود ولی در خامه سرعت رشد لوله گرده نسبت به کلالة بیشتر بوده و هتروتروف می باشد (Losada and Herrero, 2014). بنابراین، باتوجه به تاثیراتی که ریز مغذی ها از جمله روی بر جوانه زنی و رشد لوله ی گرده و در نتیجه تشکیل میوه دارد، در این تحقیق تأثیر این عنصر بر جوانه زنی و رشد لوله گرده چند رقم سیب شامل: رد دلشیز^۲، گالا^۳، گلدن دلشیز^۴ و فوجی^۵ با استفاده از روش بررسی روند رشد لوله گرده در مادگی توسط میکروسکوپ فلورسنت انجام گرفت.

مواد و روش ها

در اسفند ماه سال ۱۳۹۳ ابتدا ارقامی از درختان سیب شامل رد دلشیز، گلدن دلشیز، گالا و فوجی واقع در باغ تحقیقاتی دانشگاه شاهد انتخاب شدند. بعد از نشانه گذاری ارقام وضعیت جوانه ها مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله بعد غلظت های تیمارها مشخص شده و محلول ها تهیه شدند. سپس در زمان ۲ هفته قبل از باز شدن جوانه های گل، محلول پاشی عنصر روی با غلظت های صفر، ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر صورت گرفت (Ahmed *et al.*, 2002). برای جذب بهتر مواد، محلول پاشی در ساعت خنک بعد از ظهر انجام گرفت. محلول پاشی جوانه ها تا زمانی ادامه پیدا کرد که شاخه ها کاملاً خیس شده و محلول از شاخه ها چکه کرد.

متوقف می گردد و از آنجایی که اندوخته غذایی دانه گرده برای رشد لوله گرده محدود می باشد در چنین شرایطی میزان اندوخته غذایی تکافوی رشد لوله گرده را نکرده و عمل تلقیح صورت نمی پذیرد (Stanley and Linskens, 1974). زمان لازم برای رسیدن لوله گرده به تخمدان به عنوان یک شاخصه تأثیر گذار از گرده افشانی به شمار می آید (Jefferies and Brain, 1984). روی از جمله عوامل تأثیر گذار بر جوانه زنی دانه گرده و به دنبال آن رشد لوله گرده در خامه و تخمدان می باشد. بر اساس مطالعات صورت گرفته گزارش شده است که مقدار روی موجود در نقاط رشد انتهایی^۱ لوله گرده حدود ۱۵۰ میکروگرم در یک گرم وزن خشک بوده که در مقایسه با قسمت های قاعده لوله گرده حدود ۵۰ میکروگرم بیشتر است که نشان دهنده نیاز ضروری به میزان بالای روی در سنتز پروتئین ها در نوک لوله گرده می باشد (Ender *et al.*, 1983).

حساسیت گونه های گیاهی به روی متفاوت است که در این میان سیب بیشترین حساسیت را به کمبود روی دارد (Marschner, 1995). عرضه کم روی (۰/۱ میلی مول بر لیتر) موجب کاهش در اندازه بساک، ظرفیت تولید گرده و اندازه و زنده ماننی دانه های گرده می شود (Pandey *et al.*, 2006). افزایش عرضه روی به مقدار کافی در شروع فرآیند گلدهی موجب کاهش شدت اثرات کمبود روی در دانه گرده، مورفولوژی کلالة، باروری گرده و عملکرد دانه گرده می گردد (Pandey *et al.*, 2006).

Qin (1996) با بررسی اثر محلول پاشی عناصر روی و بور بر درخت پرتقال گزارش نمودند کاربرد روی سبب افزایش طول لوله گرده پرتقال و هم چنین باروری و افزایش زنده ماننی تخمک می شود، در حالی که بور باعث افزایش رشد لوله گرده می گردد. هم چنین، گزارش شده که محلول پاشی سولفات روی بر جوانه های درخت سیب سبب افزایش تعداد گل ها شده و در نتیجه موجب افزایش تشکیل میوه و عملکرد آن شده است

2- Red Delicicious

3- Galla

4- Golden Delicicious

5- Fuji

1- Epically

پذیرش کرده بودند. پس از انجام تلاقی‌های مورد نظر روی ارقام سیب، مادگی‌های تلقیح یافته جهت مشاهدات آزمایشگاهی جمع‌آوری گردید. بدین منظور از هر ترکیب تلاقی حداقل ۲۰ مادگی سالم انتخاب شد و داخل ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ سی‌سی فیکساتور قرار داده شدند. با توجه به این که زمان گرده‌افشانی مؤثر ارقام مورد مطالعه تقریباً سه الی پنج روز بوده و قبل از ۷۲ ساعت هنوز لوله‌های گرده به تخمدان نرسیده هم‌چنین، اکثر لوله‌های گرده بعد از ۹۶ و قبل از ۱۲۰ ساعت وارد تخمدان می‌شدند. بعد از ۱۲۰ ساعت مواد غذایی خامه نیز تمام و لقاح صورت گرفته و لوله گرده‌ای در خامه نمی‌ماند (Sedgley, 1990). بنابراین، در این تحقیق زمان نمونه برداری طی دو زمان ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی تکمیلی صورت گرفت. فیکساتور شامل ۵ درصد فرمالدئید ۵۰ درصد، ۵ درصد اسیداستیک گلاسیال و ۹۰ درصد الکل ۷۰ درصد بود که برای تثبیت مادگی‌های تلقیح شده مورد استفاده قرار گرفت (Socias I Company et al., 1976). ترکیبات مختلف موجود در محلول فوق باعث توقف رشد لوله گرده تا زمان بررسی میکروسکوپی گردید. نمونه‌ها تا انجام آزمایش‌های بعدی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در این مرحله مادگی‌ها از داخل فیکساتور خارج و با آب مقطر سه بار به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده شدند. در مرحله بعد مادگی‌ها در داخل ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۱۰ میلی‌لیتر سولفیت سدیم ۵ درصد قرار داده شدند. به‌منظور نرم شدن بافت مادگی در داخل اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و با فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شدند و بعد از خنک شدن ویال‌ها تا زمان انجام رنگ آمیزی داخل یخچال نگهداری شدند (Socias I Company et al., 1976). رنگ‌آمیزی نمونه‌ها توسط محلول آیلین بلو صورت گرفت. روند رشد لوله گرده در تلاقی‌های مختلف با میکروسکوپ فلورسنت در چهار قسمت شامل سطح کلاله، یک سوم بالای خامه، وسط خامه و ابتدای تخمدان مورد بررسی قرار گرفت (Linskens and Esser, 1957).

به‌منظور جمع‌آوری دانه گرده، یک هفته قبل از باز شدن گل‌ها، شاخه‌هایی که حاوی غنچه کافی بودند به طول تقریبی ۵۰ سانتی‌متر از درختانی که محلول‌پاشی شده بودند تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. در مرحله بعد، زمانی که غنچه‌ها در پایان مرحله بالونی^۱ قرار داشتند، بساک‌های آن‌ها با استفاده از پنس به آرامی جدا شد و به مدت ۱۸-۱۲ ساعت روی یک کاغذ در دمای اتاق (۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده تا خشک شده و شکاف برداشته و گرده‌ها آزاد شوند. گرده‌های خشک شده تا زمان انجام آزمایش در ویال‌های شیشه‌ای در یخچال نگهداری شدند. به‌منظور اطمینان از قدرت جوانه‌زنی دانه‌های گرده جمع‌آوری شده، اقدام به کشت آن‌ها در محیط کشت شد. برای کشت دانه گرده از محیط کشت حاوی ۳۰ درصد ساکاروز، یک درصد آگار و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید بوریک استفاده شد (Imani et al., 2011). محیط کشت‌های حاوی گرده به مدت ۱۲ ساعت به انکوباتور با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند بعد از این مدت جهت توقف رشد لوله‌های گرده در زمان مورد نظر از کلروفورم استفاده شد در پایان تعداد دانه‌های گرده‌ی جوانه زده در سطح کلاله در زیر میکروسکوپ شمارش و درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. شش ترکیب تلاقی از چهار رقم سیب شامل:

۱- Red delicious × Golden delicious

۲- Galla × Fuji

۳- Red delicious × Fuji

۴- Red delicious × Galla

۵- Golden delicious × Fuji

۶- Golden delicious × Galla

در نظر گرفته شدند. برای انجام هر ترکیب تلاقی روی پایه‌های مادری چند شاخه با تعداد جوانه گل مناسب در نظر گرفته شد تا در زمان گرده‌افشانی با گرده‌های والد پدری تلاقی داده شوند. گرده‌افشانی شاخه‌های انتخاب شده روی پایه‌های مادری یک روز پس از اخته کردن در صبح و زمانی صورت گرفت که کلاله‌ها آماده

همچنین قسمت ابتدایی تخمدان در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد. اثر زمان نیز مشابه اثر غلظت روی بر تمام صفات مورد مطالعه در سطح یک درصد معنی دار شد. اثر متقابل روی و زمان در سطح کلاله و ابتدای تخمدان در سطح یک درصد و قسمت میانی خامه در سطح پنج درصد معنی دار شد ولی در قسمت ابتدای خامه معنی دار نشد. اثر متقابل زمان و تلاقی‌ها روی هیچکدام از صفات مورد مطالعه معنی دار نشد ولی اثر متقابل غلظت روی و تلاقی‌ها بر همه صفات مورد مطالعه در سطح یک درصد معنی دار شد. اثر متقابل تلاقی و روی و زمان بر درصد جوانه‌زنی گرده‌ها در سطح یک درصد و تعداد لوله‌های گرده نفوذ کرده به قسمت میانی خامه در سطح پنج درصد معنی دار شد، ولی تعداد لوله‌های گرده نفوذ کرده در قسمت ابتدای خامه و ابتدای تخمدان معنی دار نشد (جدول ۱).

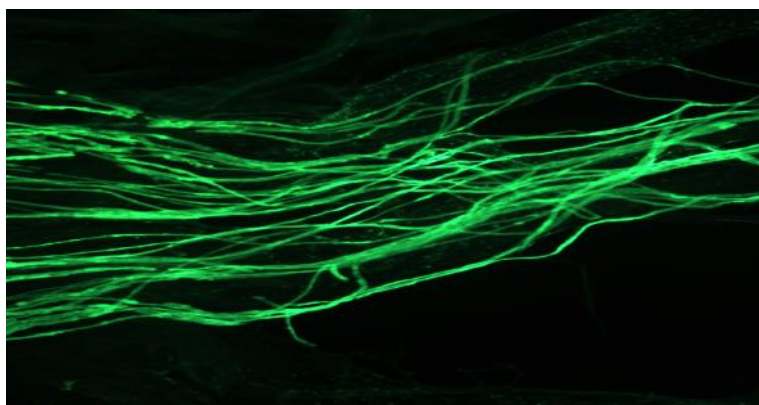
نتایج این پژوهش نشان داد که در اکثر تلاقی‌ها کاربرد روی در غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده روی کلاله را دارد. در مورد سایر صفات نفوذ لوله گرده به قسمت‌های ابتدا و میانی خامه و نیز قسمت ابتدایی تخمدان تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده نشد (شکل ۲). نتایج این پژوهش نشان داد که با کاربرد سطوح ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی در گرده‌های والد پدری و مادگی‌های والد مادری میزان جوانه‌زنی و نفوذ لوله گرده در سطح کلاله و قسمت‌های خامه و ابتدای تخمدان نسبت به تیمار شاهد افزایش چشمگیری را داشت (شکل ۱).

از آنجا که سیب پنج برچه‌ای بوده و هر مادگی آن دارای پنج کلاله و خامه می‌باشد میانگین درصد جوانه‌زنی و نفوذ لوله‌های گرده‌ها در هر پنج کلاله و خامه محاسبه شدند (شکل ۱).

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه عامل زمان، عنصر روی و شش ترکیب تلاقی با پنج تکرار (پنج نمونه مادگی در هر تکرار) در دو زمان مختلف (۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از انجام تلاقی‌ها) صورت گرفت. تجزیه واریانس، مقایسه میانگین (با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن) و برآورد ضریب همبستگی با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

برای اطمینان از قدرت جوانه‌زنی گرده‌ها در زمان گرده افشانی، ابتدا اقدام به کشت گرده‌ها در محیط کشت شد، بر اساس نتایج تمامی ارقام درصد جوانه‌زنی بالای ۷۰ درصد را نشان دادند. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ترکیب تلاقی چهار رقم فوجی، گالا، گلدن دلشیز و رد دلشیز بر درصد جوانه‌زنی گرده‌ها و تعداد لوله‌های گرده نفوذ کرده به قسمت بالایی خامه در سطح یک درصد معنی دار شد ولی اثر تلاقی‌ها بر تعداد لوله گرده نفوذ کرده در قسمت میانی خامه و ابتدای تخمدان معنی دار نشد (جدول ۱). هم‌چنین، غلظت روی بر صفات درصد جوانه‌زنی گرده، تعداد لوله‌های گرده نفوذ کرده به ابتدا، قسمت میانی خامه



شکل ۱- لوله‌های گرده رقم فوجی در بخش یک دوم خامه رقم گالا
Figure 1. Pollen tubes of Fuji in half part of Galla pistil

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر زمان، ترکیب تلاقی و عنصر روی بر درصد جوانه‌زنی کرده در سطح کلاله و درصد نفوذ لوله کرده در ابتدا، میانه‌ی خامه و ابتدای تخمدان

Table 1. Analysis of variance of the effect of time crosses and zinc on pollen germination on the stigma and tube penetration to upper and middle part of the style and so beginning of the ovary

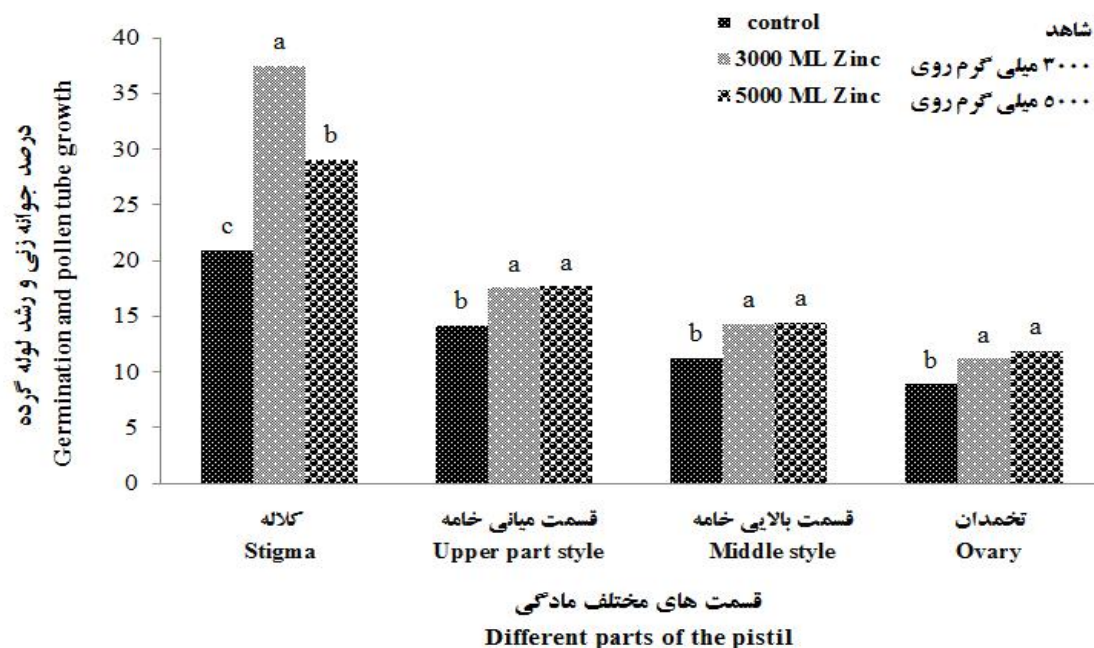
میانگین مربعات Mean Square				درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of variation
ابتدای تخمدان Beginning of the ovary	قسمت بالایی خامه Upper part of the style	قسمت میانی خامه The middle part of the style	سطح کلاله Stigma		
8.06 ^{ns}	54.47**	11.3 ^{ns}	152/75**	5	تلاقی Cross
148.30**	238.7**	206.50**	4099.03**	2	غلظت روی Concentration of zinc
764.55**	973.75**	599.40**	22449.46**	1	زمان Time
6.31 ^{ns}	9.25 ^{ns}	14.01 ^{ns}	56/57 ^{ns}	5	تلاقی × زمان Cross × Time
31.30**	37.62**	47.62**	82.08**	10	تلاقی × روی Cross × Zinc
34.16**	18.15 ^{ns}	51.56*	326.63**	2	زمان × روی Zinc × Time
13.99 ^{ns}	18.04 ^{ns}	37.27*	91.97**	10	تلاقی × زمان × روی Cross × Zinc × Time
8.24	12.39	13.99	26.37	144	خطا Error
				179	کل Total
27	21.39	28.1	17.6		ضریب تغییرات (درصد) C. V. (%)

ns, * و ** به ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد را نشان می‌دهد.

ns, * and ** show no significant differences, significant at the 5 and 1 % respectively.

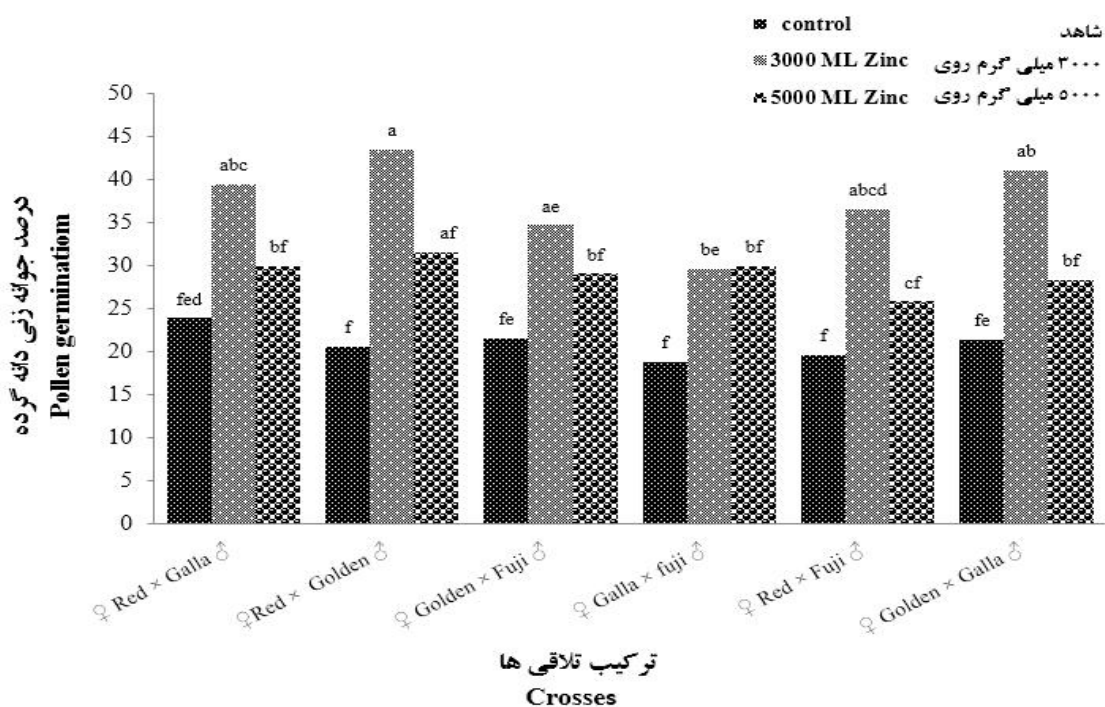
نتایج نشان دهنده نقش تأثیرگذار روی در مرحله جوانه‌زنی کرده و به دنبال آن رشد لوله کرده بوده که مطابق با اثر افزایش غلظت‌های ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی در صفات مورد مطالعه در این آزمایش می‌باشد. بر اساس نتایج شکل (۳) بیشترین درصد جوانه‌زنی با ۴۳/۵۰ درصد در تیمار ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی و ترکیب تلاقی Red Delicious × Golden Delicious مشاهده شد (شکل ۳). هم‌چنین در ترکیب تلاقی Red Delicious × Golden Delicious با تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی بیشترین درصد جوانه‌زنی در سطح کلاله با ۳۱/۵۰ درصد مشاهده شد (شکل ۳).

بر اساس مطالعات صورت گرفته بر جوانه‌زنی دانه کرده گندم مشاهده شد که با کاربرد بور و روی به ترتیب در غلظت‌های ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول‌پاشی و ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بور و روی به صورت مصرف خاکی بیان نمودند که بیشترین درصد جوانه‌زنی کرده‌ها در محیط کشت ۴۷/۱۲ درصد در روش مصرف توام خاکی و محلول‌پاشی روی مشاهده شده است (Norouzi et al., 1384). هم‌چنین، گزارش شده است که افزایش عرضه روی به مقدار کافی در شروع فرایند گلدهی موجب کاهش شدت اثرات کمبود روی در دانه کرده، مورفولوژی کلاله، باروری کرده و عملکرد دانه می‌گردد (Pandey, 2006). این



شکل ۲- اثر غلظت های مختلف روی بر درصد جوانه زنی گرده روی کلاله و درصد نفوذ لوله گرده به ابتدا، میانه خامه و ابتدای تخمدان

Figure 2. The effect of different concentrations of the zinc on the pollen germination percentage on the stigma and pollen tube penetration into the beginning, middle of the style and the beginning of the ovary



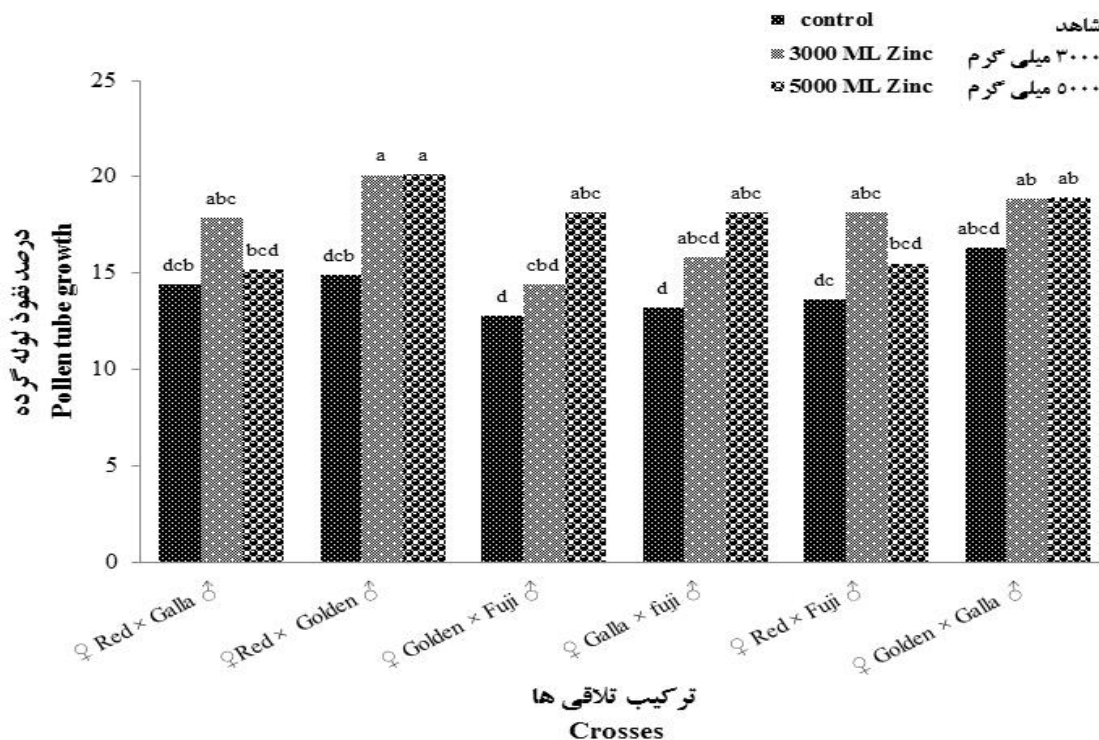
شکل ۳- اثر متقابل غلظت روی x ترکیب تلاقی بر درصد جوانه زنی گرده در سطح کلاله

Figure 3. The interaction between zinc concentration and crosses on the pollen germination on the stigma

انتقالات الکترون در زمان تنفس گیاه تأثیر منفی می‌گذارد بلکه به صورت جزئی یا کامل از فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری کرده و در نتیجه به صورت غیرمستقیم رشد گیاه را متوقف می‌کند. هم‌چنین، کاهش فعالیت آنزیم‌ها و کاهش اکسیژن رسانی اثرات منفی غلظت بالای عنصر روی، بر جوانه‌زنی گرده و رشد لوله گرده را بیشتر و شدیدتر می‌کند (Ayaz and Kadioglu, 1996).

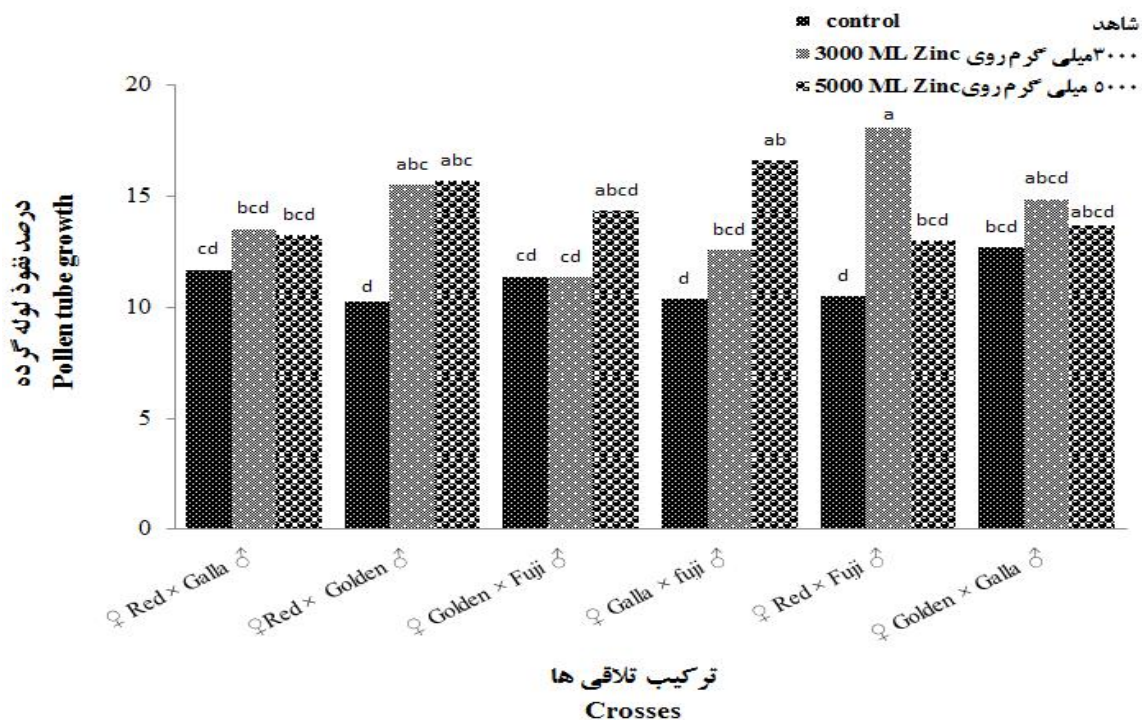
در این مطالعه غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی موجب کاهش اندکی بر درصد جوانه‌زنی گرده‌ها شد اما در نهایت موجب افزایش نفوذ لوله‌ی گرده به ابتدای خامه و تخمدان و میانه‌ی خامه شد (شکل ۴، ۵ و ۶). بر اساس نتایج بیشترین درصد جوانه‌زنی گرده در ترکیب تلاقی Red Delicious × Golden Delicious با ۳۱/۸۳ درصد و کمترین درصد جوانه‌زنی در ترکیب تلاقی Gala × Fuji با ۲۶/۱۰ درصد مشاهده شد (شکل ۷).

اگرچه در این مطالعه تأثیر غلظت ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی بر صفات مورد مطالعه مقاداری کاهش در درصد جوانه‌زنی گرده در سطح کلاله را نسبت به غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نشان داد اما نسبت به تلاقی‌های تیمار شده با شاهد اثر افزایشی را نشان داد. با توجه به این که هم رقم گرده والد پدری و هم مادگی رقم والد مادری غلظت‌های ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی را دریافت کرده‌اند نهایتاً موجب افزایش غلظت روی در گرده‌ها و سطح کلاله شده و به دنبال آن با تأثیرگذاری منفی بر جوانه‌زنی گرده کاهش جوانه‌زنی را به دنبال داشت. Tuna et al. (2002) گزارش کردند که با کاربرد ۲۴۰ میکرومول (۲/۷ میلی‌گرم) سولفات روی در ۸ محیط کشت دانه‌ی گرده‌ی تنباکو، درصد جوانه‌زنی گرده و طول رشد لوله گرده نسبت به محیط کشت نمونه‌ی شاهد به ترتیب ۱۴/۴۳ درصد و ۲۱/۵۶ میکرومتر کاهش را نشان داد. از طرفی دیگر غلظت‌های بالای روی نه تنها بر نقل و



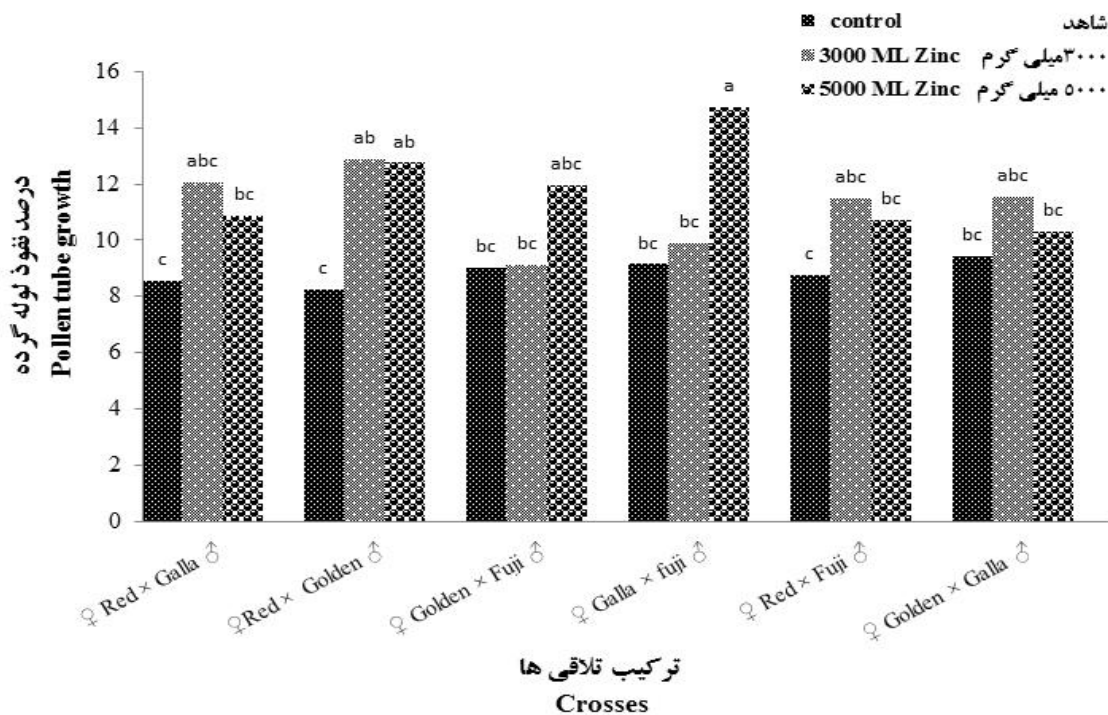
شکل ۴- اثر متقابل غلظت روی × ترکیب تلاقی بر میزان نفوذ لوله گرده در ابتدای خامه

Figure 4. The interactions between zinc concentration and crosses on the pollen tube penetration into the beginning of the style



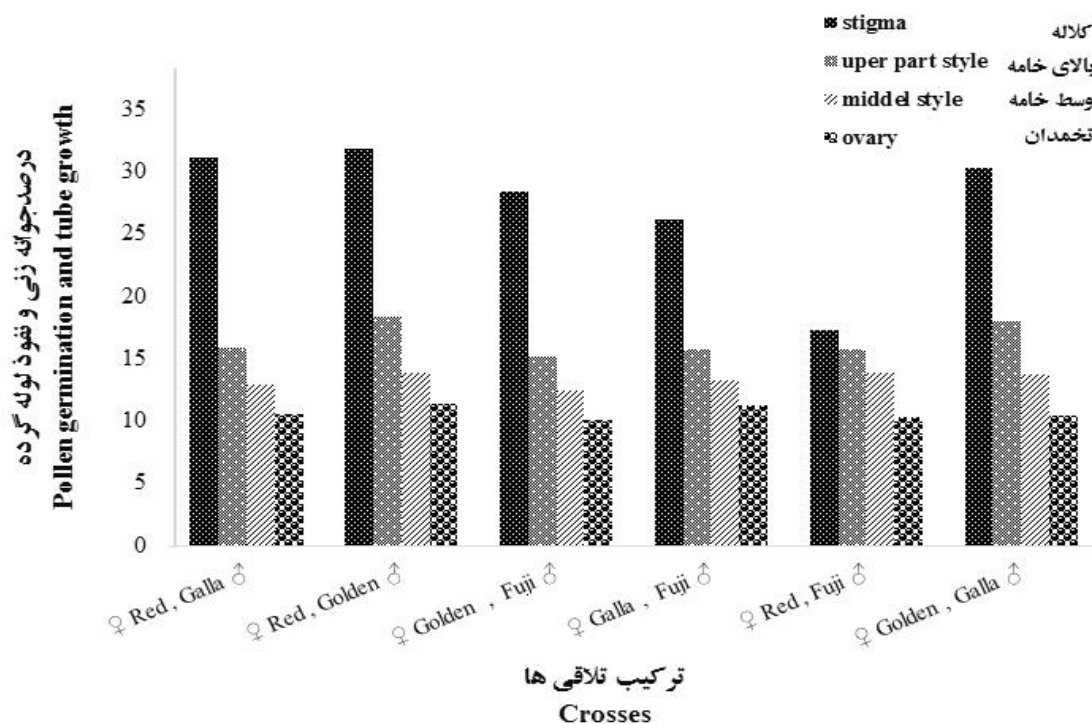
شکل ۵- اثر متقابل غلظت روی × ترکیب تلاقی بر میزان نفوذ لوله گرده در میانه خامه

Figure 5. The interactions between zinc concentration and crosses on the pollen tube penetration into the middle part of the style



شکل ۶- اثر متقابل غلظت روی × ترکیب تلاقی بر میزان نفوذ لوله گرده در ابتدای تخمدان

Figure 6. The interactions between zinc concentration and crosses on the pollen tube penetration into the beginning of the ovary



شکل ۷- اثر ترکیب تلاقی بر درصد جوانه‌زنی گرده و میزان نفوذ لوله گرده در ابتدا، میانه‌ی خامه و ابتدای تخمدان
 Figure 7. Effect of crosses on the pollen germination percentage and tube penetration into the upper and middle parts of the style and so to the beginning of the ovary

غلظت ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر روی جوانه‌زنی تا ۵۹/۴۰ درصد افزایش یافت.

بیشترین میزان نفوذ لوله گرده در ابتدای تخمدان نیز در ترکیب تلاقی (Galla × Fuji) در زمان ۱۲۰ ساعت با غلظت ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر با ۱۸/۰۸ درصد مشاهده شد (شکل ۱۰). Dantas (۲۰۰۲) با مطالعه دگرگرده‌افشانی دو رقم سيب (M.9 و Marubakaido) در برزیل، بیان نمود که جوانه‌زنی گرده در سطح کلالة، ۱۲ ساعت پس از گرده‌افشانی آغاز گردیده، هم‌چنین، در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که رشد لوله گرده به طور معمول دو روز طول می‌کشد تا در دمای معمولی به تخمدان برسد (Yoder et al., 2009).

De-Albuquerque et al. (2010) ۳۴ تلاقی

بین ارقام سيب برزیلی را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که رشد لوله گرده برای نفوذ به تخمدان پس از ۱۲۰ ساعت از تثبیت گرده روی کلالة مشاهده

Dewet و Robbertse (1996) در مطالعه اثر

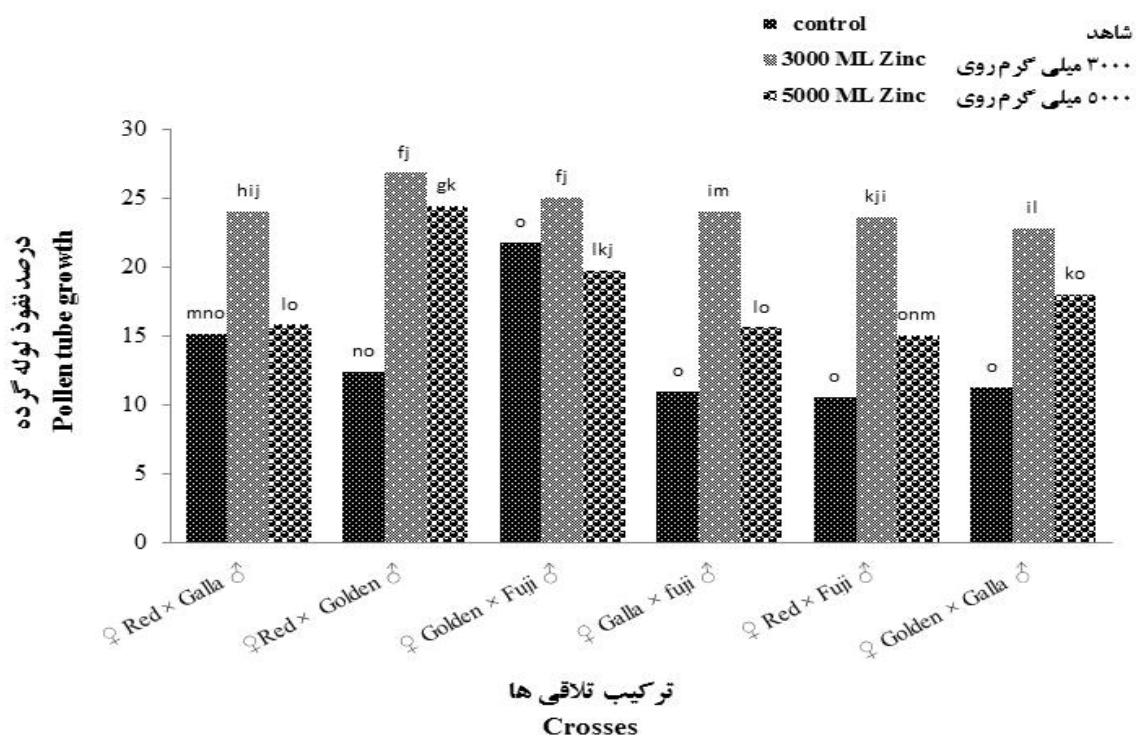
ترکیب تلاقی بین چهار رقم سيب بر صفات مورد نتایج مشابهی بدست آوردند. ایشان گزارش کردند که خودگرده‌افشانی کمتر از دگر گرده‌افشانی در ارقام سيب رخ می‌دهد. در خود گرده‌افشانی در ارقام Fuji و Golden Delicious مشاهده شد که تشکیل میوه در این ارقام تنها بین ۱/۸-۱ درصد بود. هم‌چنین، بیان کردند که کاربرد گرده رقم Golden Delicious به‌عنوان والد پدری بر پایه مادری Red Delicious موجب افزایش جوانه‌زنی و افزایش میزان نفوذ لوله گرده شده و به دنبال آن موجب بهبود تلقیح تخمک و تشکیل میوه در این رقم می‌شود.

بر اساس نتایج شکل (۸ و ۹) مشاهده شد که با گذشت زمان میزان درصد جوانه‌زنی در ترکیب تلاقی‌ها افزایش یافت به‌طوری‌که در ترکیب تلاقی Galla × Golden Delicious در زمان ۱۲۰ ساعت و با

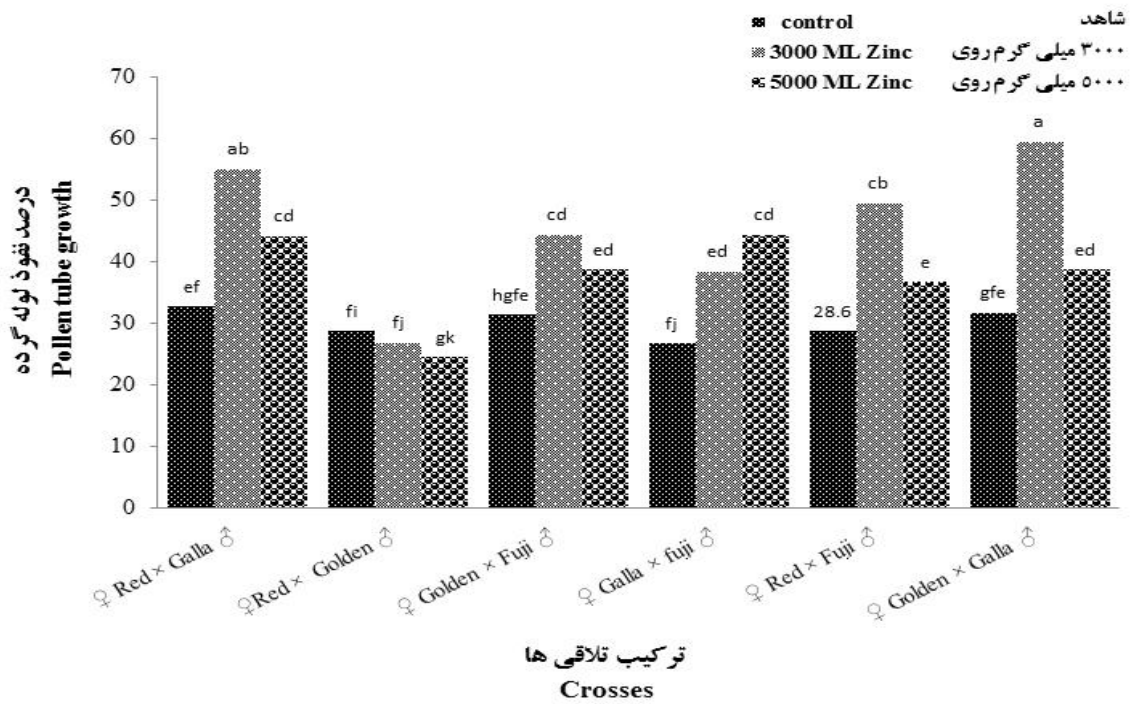
یا ۹۶ ساعت نبوده و بررسی آن باعث افزایش هزینه، اتلاف وقت و فقط افزایش تعداد نقاط مورد مطالعه در خامه می‌شد. هر چند مطالعه در این ساعات نیز باعث غنای بیشتر مطالعه می‌گردید. البته باید اذعان داشت چنانچه هدف اصلی مطالعه برآورد دوره گرده‌افشانی مؤثر بود مطالعه روند رشد لوله گرده در ۲۴، ۴۸ یا ۹۶ ساعت الزامی هم بود.

در بررسی رابطه بین روی و درصد جوانه‌زنی گرده در سطح کلاله و میزان نفوذ لوله گرده به ابتدا، میانه خامه و ابتدای تخمدان در تمام روابط همبستگی معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد مشاهده شد (جدول ۲). کاربرد محلول پاشی روی بر جوانه‌های سیب در مطالعه حاضر نشان‌دهنده همبستگی مثبت کاربرد روی در مراحل جوانه‌زنی و به دنبال آن رشد لوله گرده بوده است.

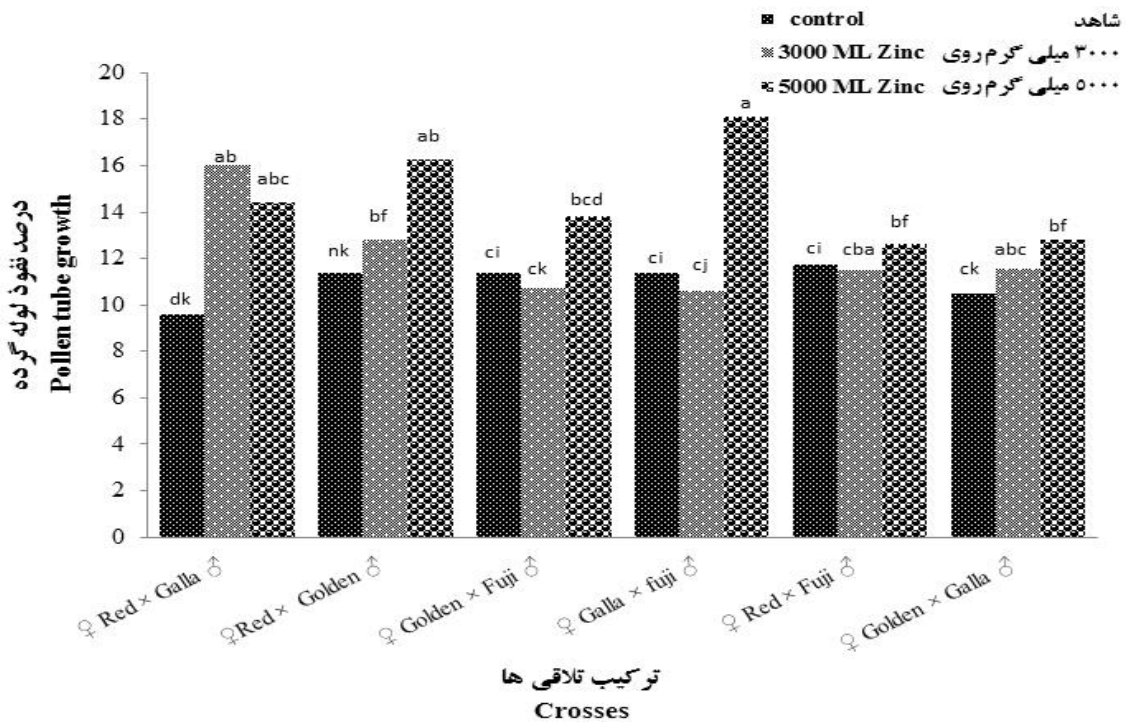
گردید. این نتایج نشان می‌دهد که هرچه زمان بیشتری از گرده‌افشانی سپری می‌شود تعداد و میزان نفوذ لوله گرده به تخمدان افزایش می‌یابد (Nyomora *et al.*, 2000). با توجه به این که زمان گرده‌افشانی مؤثر ارقام مورد مطالعه تقریباً سه الی پنج روز بوده و قبل از ۷۲ ساعت هنوز لوله‌های گرده به تخمدان نرسیده هم‌چنین، اکثر لوله‌های گرده بعد از ۹۶ و قبل از ۱۲۰ ساعت وارد تخمدان می‌شدند. بعد از ۱۲۰ ساعت مواد غذایی خامه نیز تمام و لقاح صورت گرفته و لوله گرده‌ای در خامه نمی‌ماند (Sedgley, 1990). بنابراین، در این تحقیق زمان نمونه برداری طی دو زمان ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از گرده‌افشانی تکمیلی صورت گرفت. چون هدف اصلی مطالعه اثرات عنصر روی بر روند رشد لوله گرده در خامه و نفوذ به تخمدان بود، نیازی به بررسی در ۲۴، ۴۸



شکل ۸- اثر متقابل زمان و غلظت روی در ترکیب تلاقی بر درصد جوانه‌زنی در سطح کلاله پس از ۷۲ ساعت
 Figure 8. The interactions among time, zinc concentration and crosses on the pollen germination percentage on the stigma after 72 hours



شکل ۹- اثر متقابل زمان و غلظت روی در ترکیب تلاقی بر درصد جوانه‌زنی در سطح کلاله پس از ۱۲۰ ساعت
 Figure 9. The interactions among time, zinc concentration and crosses on the pollen germination percentage on the stigma after 120 hours



شکل ۱۰- اثر متقابل زمان و غلظت روی در ترکیب تلاقی بر درصد نفوذ لوله‌های گرده به قسمت ابتدایی تخمدان پس از ۱۲۰ ساعت
 Figure 10. The interactions among the time, zinc concentration and crosses on the pollen tubes penetration to the beginning of the ovary after 120 hours

جدول ۲- ضرایب همبستگی پیوسون برای اثر روی بر درصد جوانه زنی گرده در سطح کلاله و نفوذ لوله گرده به ابتدا و میانه خامه و ابتدای تخمدان

Table 2. Pearson correlation coefficients for the effect of the zinc on the pollen germination percentage on the stigma and pollen tube penetration to the upper and middle parts of the style and so the beginning of the ovary

ابتدای تخمدان Beginning of the ovary	میانه خامه Middle part of the style	بالای خامه Upper part of the style	سطح کلاله Stigma level
			1 سطح کلاله Stigma level
		1 بالای خامه Upper part of the style	0.587**
	1 میانه خامه Middle part of the style	0.787**	0.447**
1 ابتدای تخمدان Beginning of the ovary	0.820**	0.785**	0.564**

ns, * and ** show no significant differences, significant at the 5 and 1 % respectively.

مشاهده می شود. کمبود روی به طور مستقیم بر مورفولوژی کلاله، باروری گرده و عملکرد دانه تأثیر می گذارد. بنابراین، با افزایش عرضه روی در غلظت ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر که بیشترین تأثیر گذاری را بر جوانه زنی و رشد لوله گرده در مادگی سیب نشان داد در طی زمان ۲ هفته قبل از باز شدن گل ها می توان به اپتیمم تشکیل میوه در باغات سیب دست یافت. در آزمایش های انجام شده با کاربرد غلظت های ۳۰۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر بر روی ارقام بادام گزارش شد که این غلظت ها موجب افزایش تشکیل میوه شده که دلایل آنرا اثر مثبت روی بر درصد جوانه زنی و رشد لوله گرده دانسته اند.

نتیجه گیری

اگرچه در این مطالعه تأثیر غلظت ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر روی بر صفات مورد مطالعه مقداری کاهش در درصد جوانه زنی گرده در سطح کلاله را نسبت به غلظت ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر نشان داد اما در نهایت موجب افزایش نفوذ لوله گرده به ابتدای تخمدان شده که به دنبال آن لقاح موفق و تشکیل میوه مطلوب را خواهیم داشت. از طرفی به دلیل آهکی بودن خاک اغلب باغ های کشور و تحرک کم عناصر کم مصرف در خاک و کاهش فعالیت ریشه در طول مرحله زایشی و میوه دهی، کاهش جذب عنصر روی در درختان میوه

References

- Ahmed, F.F., Darwish, O.H., Gobara, A.A., & Ali, A.H. (2002). Physiological studies on the effect of ascorbic and citric acids in combined with some micronutrients on "Flame Seedless" grape vines. *Journal of Agricultural Research and Development*, 22(1): 105-114.
- Ayaz, F.A. and Kadioglu, A. (1996). The effect of heavy metals on the isoenzymes of amylase and peroxidase during germination of lentil (*Lens esculenta* L.) seeds. *Turkish Journal of Botany*, 20(6): 503-507.
- Broothaerts, W. and Van Nerum, I. (2002). Apple self-incompatibility genotypes: an overview. In XXVI International Horticultural Congress: Genetics and Breeding of Tree Fruits and Nuts, 622: 379-387.

- Dantas, A.C.M., Morales, L.K.A., Pedrotti, E.L., Nodari, R.O., Guerra, M.P. (2002). Superacao in vitro da dormência de embriões do porta-enxerto de macieira M9 (*Malus pumilla* Mill.). Revista Brasileira de Fruticultura, 24(1): 10-14.
- De-Albuquerque Junior, C.L., Denardi, F., De-Mesquita Dantas, A.C., and Nodari, R.O. (2010). Notas científicas desenvolvimento de tubos polinicos em cruzamentos entre cultivars brasileiras de macieira. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 45(11): 1324-1327.
- Dewet, E. and P.J. Robbertse. (1989). The influence of temperature and boron on pollen germination in *Mangifera indica*. Suud Afrikanse Tydskrift fur Plant und Grond 6: 228-234.
- Ender, C., Li, M.Q., Martin, B., Povh, B., Nobiling, R., Reiss, H.D., and Traxel, K. (1983). Demonstration of polar zinc distribution in pollen tubes of *Lilium longiflorum* with the Heidelberg proton microprobe. Protoplasma, 116(2-3): 201-203.
- Hipps, N.A. and Davies, M.J. (2000). Effects of foliar zinc applications at different times in the growing season on tissue zinc concentrations, fruit set, yield and grade out of culinary 10 apple trees. In IV International Symposium on Mineral Nutrition of Deciduous Fruit Crops, 564: 145-151.
- Imani, A., Barzegar, K., Piripireivatlou, S., and Masomi, S.H. (2011). Storage of apple pollen and in vitro germination. African Journal of Agricultural Research, 6(3): 624-629.
- Jefferies, C.J. and Brain, P. (1984). A mathematical model of pollen tube penetration in apple Styles. Planta, 160(1): 52-58.
- Linskens, H.F. and Esser, K.L. (1957). Uber eine spezifische Anfärbung der Pollenschläuche im Griffel und die Zahl der Kallosepfropfen nach Selbstung und Fremdung. The Science of Nature- Naturwissenschaften, 44(1): 16-16.
- Losada, J.M. and Herrero, M. (2014). Glycoprotein composition along the pistil of (*Malus domestica*) and the modulation of pollen tube growth. BMC plant biology, 14(1): 1-7.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. Second Academic Press London. P. 672.
- Norouzi, S., Malakouti, M.j., and Rezaei, H. (1384). The effects of zinc and boron on seed germination and pollen tube growth of wheat. Ninth Congress of Soil Science, Tehran, Soil Conservation and Watershed Management Research Center. [In Farsi]
- Nyomora, A.M., Brown, S., Pinney, P. H., and Polito, V.S. (2000). Foliar application of boron to almond trees affects pollen quality. Journal of the American Society for Horticultural Science, 125(2): 265-270.
- Pandey, N., Pathak, G.C., and Sharma, C.P. (2006). Zinc is critically required for pollen function and fertilisation in lentil. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 1(20): 89-96.
- Qin, X. (1996). Foliar spray of B, Zn and Mg and their effect on Fruit production and quality of jincheng orang. Jurnal of Southsest Agricultural Univesity, 18(1): 40-45.

- Sedgley, M. (1990). Flowering of deciduous perennial fruit crops. *Horticultural Reviews*, 12: 223-264.
- Socias I Company, R., Kester, D.E., and Bradley, M.V. (1976). Effect of temperature and genotype on pollen tube growth in some self-compatible and self-incompatible almond cultivars. *Horticultural Science*. 101: 490-493.
- Stanley, R.G. & Linskens, H.F. (1974). *Pollen: Biology, Chemistry, management*. Berlin: Springer-Verlag. P. 265.
- Tuna, A. L., Burun, B., Yokas, I., and E. Coban, 2002, The effects of heavy metals on pollen germination and pollen tube length in the tobacco plant. *Turkish Journal of Biology*, 26(1): 109-113.
- Yoder, K., Yuan, R., Combs, L., Byers, R., McFerson, J., and Schmidt, T. (2009). Effects of temperature and the combination of liquid lime sulfur and fish oil on pollen germination, pollen tube growth, and fruit set in apples. *HortScience*, 44(5): 1277-1283.

Effects of Zinc Foliar Spray on Pollen Tube Growth in Pistils of Some Apple Cultivars Crosses

S. Fallah Moafi¹ and Y. Sharafi^{2*}

- 1- M.Sc. Student of Pomology, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
- 2- ***Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran (y.sharafi@shahed.ac.ir)

Received: 28 September, 2015

Accepted: 27 May, 2017

Abstract

Background and Objectives

Apple is one of the most important horticultural crops in Iran. As the most apple cultivars are self-incompatible, having a good fruit set requires favorable cross-pollination. However, this phenomenon is related to a series of complex processes which happens on the stigma. Zinc is one of the main factors that affects pollination and has an important role in increasing the percentage of pollen germination thereby increasing fruit set. It has been reported that zinc is referred to as a main growth element because of its role in hormone production in buds specially auxin biosynthesis. Auxin is the most important hormone which affects pollen tube penetration to the style and so, fruit set in plants. Zinc deficiency in the apple orchards primarily affects the above ground portions of trees, resulting in poor leaf and shoot growth, reduced flowering and fruit set, and reduced size and coloring of fruit. Zinc is also important in the movement of calcium within the tree. Using zinc sprays is the most consistent and cost effective way to apply this element in apple tree orchards.

Materials and Methods

In this research, the effect of zinc solution in three levels (0, 3000 and 5000 mg.l) was studied on pollen penetration to the ovary in the crosses among four apple cultivars including Golden Delicious, Red Delicious, Gala, Fuji. Pollen penetration was studied 72 and 120 hours using fluorescent microscopy technique in the laboratory after field pollination. Crosses among the cultivars included 1- Red delicious × Golden delicious , 2- Gala × Fuji , 3- Red delicious × Fuji , 4- Golden delicious × Fuji and Golden delicious × Gala .

Results

Results showed that the effects of zinc, crosses and their interaction were significant on pollen germination and tube penetration in the primary, middle of the stigma and top of the ovaries. The highest percentage (59.4%) of germination on the stigma was observed in the cross (Golden Delicious × Gala), in 120 hours and the highest penetration of pollen tube in ovary (18.08%) was observed at the cross point of 5000 ppm of Zinc, in 120 hours respectively.

Discussion

In this research the foliar application of Zinc (until 3000 mg.l) increased pollen germination and tube growth on the stigma in all of the studied four apple cultivars. Although, increasing zinc concentration to 5000 mg.l showed negative effects on the both characteristics which showed the tolerance range of the cultivars to the zinc concentration based on their genetic traits. However, increasing the Zinc concentration to 5000 mg.l led to increased pollen tube growth and penetration to the different parts of the styles in all of the crosses linearly.

Keywords: *Cross, Florescent microscopy, Ovary, Pollen germination*