



به‌شادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۳ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴
صفحه‌های ۹۵-۱۰۵

تعیین آل‌های S خودناسازگاری و روابط بین آن‌ها در نتاج F1 حاصل از تلاقی دو رقم فندق (*Corylus avellana* L.)

علی‌رضا قنبری*^۱، علی‌رضا طلایی^۲، جووانی می^۳

۱. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲. استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
۳. استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تورینو، تورینو، ایتالیا

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۱/۱۶

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۰۸/۰۴

چکیده

خودناسازگاری فندق (*Corylus avellana* L.) از نوع اسپوروفیتیک است که توسط یک مکان ژنی S با چندین آلل کنترل می‌شود. سازگاری دانه‌گرده با کلاله‌فندق در برنامه‌های اصلاحی برای انتخاب والدین و همچنین در گزینش ارقام‌گرده‌دهنده در باغ‌های تجاری، ضروری است. هدف این آزمایش بررسی و تعیین روابط سازگاری‌گرده-کلاله و تعیین آل‌های S در ۲۴ نتاج حاصل از تلاقی دو رقم فندق 'تی‌جی‌ال' و 'کاسفورد' توسط میکروسکوپ فلورسنس بود. ۴ آزمایشگر دانه‌گرده برای هر یک از ۴ آلل مطالعه شده S2، S3، S7 و S11 انتخاب شدند. شاتون‌های نر آن‌ها در مرحله نزدیک به شکوفایی، جمع‌آوری و خشک شدند. زمانی که بساک‌ها شکفتند، دانه‌های‌گرده جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در هر درخت دانه‌الی، دو شاخه اخته و سپس گل‌های ماده آن‌ها پوشانده شدند. خوشه‌های گل ماده زمانی که خامه‌ها به اندازه ۲ تا ۶ میلی‌متر رشد کرده بودند، از شاخه‌ها برداشت شدند. ۵ گل ماده (خوشه) از هر نتاج با دانه‌های‌گرده هر یک از ارقام آزمایشگر‌گرده‌افشانی شدند. حدود ۲۰ تا ۲۴ ساعت بعد از‌گرده‌افشانی، خامه‌های کلاله‌دار از جوانه‌ها جدا و در محلول آنیلین بلو-دای‌له شدند و سپس توسط میکروسکوپ فلورسنس با بزرگ‌نمایی ۴۰x و ۱۰۰x مطالعه شدند. در این پژوهش، آل‌های ۲۲ نتاج به‌طور کامل مشخص شد و در ۲ نتاج دیگر فقط یک آلل s شناسایی شد. در‌گرده‌افشانی‌های سازگار، دانه‌های‌گرده به‌خوبی جوانه زدند، لوله‌های‌گرده از سطح کلاله نفوذ کرده و توده‌ای از لوله‌های‌گرده موازی تولید کردند. درحالی‌که در واکنش‌های ناسازگار، دانه‌های‌گرده اغلب کمتر جوانه زدند و در صورت جوانه‌زنی، لوله‌های‌گرده کوتاهی تولید کردند.

کلیدواژه‌ها: اسپوروفیتیک، دورگه،‌گرده‌افشانی، میکروسکوپ فلورسنس.

مقدمه

فندق (*Corylus avellana* L.) درختچه‌ای است یک‌پایه که در اغلب مناطق در زمستان شکوفه می‌دهد. گل‌های نر آن به صورت شاتون روی شاخه‌های یک‌ساله و خوشه‌های گل ماده در سه محل متفاوت، روی شاخه‌های یک‌ساله، ساقه‌های اصلی شاتون‌ها^۱ یا بر روی سیخک‌های کوتاه روی شاخه‌های مسن، تشکیل می‌شوند. گل‌آذین ماده یک خوشه فشرده است که ۴ تا ۱۴ گل ریز دارد. هر گل ماده یک جفت خامه کلاله‌دار دارد که در قسمت پایین، توسط یک بافت مریستمی به همدیگر می‌چسبد و بعداً تمایز می‌یابد و تبدیل به تخمدان می‌شود (۷ و ۱۸). سطح کرک‌دار کلاله نسبتاً بزرگ است و برای مدت طولانی قادر به پذیرش دانه گرده است. پس از گرده‌افشانی، بخش‌هایی از کلاله که در معرض دانه گرده سازگار قرار می‌گیرد، پژمرده و سیاه می‌شود. لوله‌های گرده به طرف پایین خامه‌ها رشد می‌کنند و قسمت نوک لوله‌ها که هسته رویشی و اسپرم‌ها قرار دارند ساختاری به شکل نامنظم و با دیواره‌های کالوزی تشکیل می‌دهند و برای مدت ۵ ماه به رکود می‌روند. طی این مدت تحریک توسط گرده‌افشانی صورت می‌گیرد. بافت مریستمی در ته خامه‌ها شروع به توسعه می‌کند و تبدیل به تخمدان رسیده می‌شود. وقتی میوه‌ها به اندازه یک دوم قطر نهایی خود رسیدند کیسه‌های جنینی به‌طور کامل توسعه می‌یابند. در این موقع، لوله گرده رشد مجدد خود به داخل تخمدان از سر می‌گیرد و سبب تلقیح و تشکیل سلول تخم می‌شود (۱۸).

گرده‌افشانی سازگار، برای رشد تخمدان و پوسته سخت میوه^۲ در فندق ضروری است. اگرچه بیشتر ارقام فندق ناهم‌رسی از نوع نر پیش‌رسی^۳ (حدود ۹۰ درصد) یا

ماده پیش‌رسی^۴ (تقریباً ۱۰ درصد) دارند، معمولاً یک همپوشانی بین شکوفایی گل‌های نر و ماده وجود دارد. ولی به دلیل خود ناسازگاری در فندق، حتی در صورت خود گرده‌افشانی، میوه تشکیل نمی‌شود (۱۳). فندق خودناسازگاری اسپوروفیتیکی دارد و مادگی گیاه با یک سیستم شناسایی ژنتیکی قادر است گرده‌های خویشاوند ژنتیکی (گرده‌های خودی) را از گرده‌های غیرخویشاوند (گرده‌های غیرخودی) تشخیص دهد، در نهایت گرده‌های غیرخودی را برای تلقیح بپذیرد و گرده‌های خودی را رد کند. خودناسازگاری اسپوروفیتیکی، توسط ژنوتیپ دیپلوئید والدین آن تعیین می‌شود (۸ و ۴). در سیستم خود ناسازگاری اسپوروفیتیکی بخش خارجی دانه گرده^۵ یک جفت آلل S دارد و توسط گیاهی که دانه گرده را تولید می‌کند تعیین می‌شود (۱۰). خودناسازگاری فندق توسط یک مکان ژنی S با چندین آلل کنترل می‌شود (۱۶). سطح کلاله ناحیه‌ای است که نسبت به خودناسازگاری عکس‌العمل نشان می‌دهد و در حالت ناسازگاری رشد لوله‌های گرده در سطح کلاله متوقف می‌شود (۶ و ۱۲). آلل‌های S در دانه‌های گرده فندق هم به صورت غالب^۶ و هم به صورت هم‌باز^۷ هستند ولی در کلاله‌ها همیشه به صورت هم‌باز بیان می‌شوند. روند غالبیت آلل‌های S در دانه‌های گرده فندق به صورت خطی است و تا کنون در ۸ سطح مشخص شده‌اند (۱۴). پژوهش‌هایی بر روی روابط سازگاری بین دانه گرده و کلاله فندق توسط پژوهشگران مختلف صورت گرفته است (۱، ۲، ۳، ۵، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۶ و ۱۷).

در پژوهشی با میکروسکوپ الکترونی برهمکنش دانه

4. Protogyny
5. Exine
6. Dominant
7. Co-dominant

1. Catkins peduncles
2. Nut shell
3. Protoandry

به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی

درختان ارزیابی شده نتاج حاصل از تلاقی کنترل شده بین رقم 'تی جی ال' به منزله والد مادری و رقم 'کاسفورد' به منزله گرده دهنده بودند و این ارقام والدین از ارقام مهم خارجی در ایران نیز هستند. از هر درخت دانهال دو شاخه در دو جهت مختلف (اغلب در جهت شرق و غرب) برای اخته کردن انتخاب شدند. شاتون‌های نر شاخه‌ها در اواخر آذرماه حذف شدند. شاخه‌های اخته شده، ابتدا با یک لایه پاکت کاغذی مخصوص برای حفاظت خوشه‌های گل ماده از گرده افشانی توسط باد پوشانده شدند. برای استحکام بیشتر و حفاظت گل‌های ماده از صدمه دیدن توسط پوشش داخلی، یک کیسه به منزله پوشش بیرونی از جنس پلی استر سبک و روشن نیز قرار داده شد تا پوشش داخلی را در مقابل باد، باران، برف و تگرگ حفظ کند (۱۵). پوشش‌ها از زمان ظهور خوشه‌های گل ماده تا ۵ الی ۸ هفته بعد از آن استفاده قرار گرفتند. دانه‌های گرده از ۴ رقم آزمایشگر 'تی جی ال'، 'کاسفورد'، 'توندا دی جیفونی'،^۳ و '۱۲۱-۲۷۸ OSU' که آل‌های S آن‌ها قبلاً مشخص شده بودند، جمع‌آوری شد (جدول ۱). برای این منظور وقتی شاتون‌های نر طویل شده و نزدیک به شکوفایی بودند از درختان آزمایشگر جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. شاتون‌ها بر روی صفحات کاغذی پهن و در دمای معمولی اتاق ۱۸ الی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. بعد از شکوفایی بساک‌ها، گرده‌ها جمع‌آوری و به داخل لوله‌های با درب پنبه‌ای ریخته و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان گرده‌افشانی نگهداری شدند.

گرده و کلاله فندق در گرده‌افشانی‌های سازگار و ناسازگار بررسی شد. در این بررسی مشاهده شد که سطح کلاله فندق خشک و با پایله‌های طویل و پیچ‌خورده پوشیده است. دانه‌های گرده در هر ۲ حالت در مدت ۲ ساعت بعد از گرده‌افشانی آب جذب می‌کنند. در حالت سازگار لوله‌های گرده در مدت ۴ ساعت ظاهر می‌شوند و تا ۱۲ ساعت رشد و به داخل خامه نفوذ می‌کنند ولی در حالت ناسازگار لوله‌های گرده حداقل تا ۸ ساعت با تأخیر ظاهر و تخریب می‌شوند و نمی‌توانند در کلاله نفوذ کنند (۵). ناسازگاری دانه گرده با کلاله در گونه‌های وحشی جنس کوریلوس با استفاده از میکروسکوپ فلورسنس بررسی شد. در این پژوهش، خود گرده‌افشانی، تلاقی‌های درون‌گونه‌ای و بین گونه‌ای در آزمایشگاه انجام شد. نتایج مشخص کرد که در واکنش خودناسازگاری، کاهش جوانه‌زنی دانه گرده، کوتاه ماندن لوله گرده (معمولاً به شکل ویرگول) و عدم نفوذ در کلاله مشاهده شد (۳).

از آنجاکه سازگاری گرده- کلاله در برنامه‌های اصلاحی فندق برای گزینش والدین برای انجام تلاقی و همچنین در انتخاب ارقام گرده‌دهنده برای کاشت در باغ‌های تجاری، ضروری و حائز اهمیت است. بنابراین، پژوهش فوق به منظور، بررسی روابط سازگاری گرده- کلاله و تعیین آل‌های S در ۲۴ نتاج حاصل از تلاقی کنترل شده بین ارقام 'تی جی ال' و 'کاسفورد' توسط میکروسکوپ فلورسنس انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه ارزیابی شده در این پژوهش ۲۴ درخت فندق دورگه (درختان دانهال بالغ شش‌ساله) بودند که پس از ارزیابی‌های اولیه از بین تعداد زیادی نتاج در کلکسیون باغ فندق دانشگاه تورینوی ایتالیا در سال ۲۰۰۳ انتخاب شدند.

1. Tester
2. Tonda Gentile delle Langhe
3. Tonda di Giffoni

جدول ۱. آزمایشگرهای دانه گرده برای آلل‌های S ناسازگاری و ترکیب آلل‌های S در مادگی نتاج حاصل از تلاقی ارقام 'تی‌جی‌ال' × 'کاسفورد'

ژنوتیپ مادگی در نتاج دانه‌الی				ژنوتیپ دانه گرده در	آزمایشگرهای دانه گرده
S7S11	S3S7	S2S11	S2S3	ارقام آزمایشگر	
-	-	+	+	S2S7	تی‌جی‌ال
+	-	+	-	S3S11	کاسفورد
-	+	-	+	S4S11	OSU 278-121
+	+	-	-	S2S23	توندا دی جیفونی

(+) = سازگار (-) = ناسازگار (S?) = آلل غالب در دانه گرده بوده و بیان می‌شود.

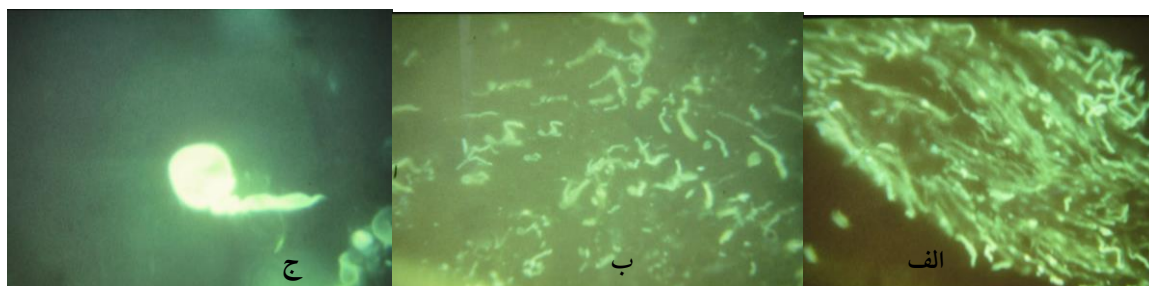
یا عدم سازگاری آن‌ها مطالعه شده قرار گرفت. مشاهدات توسط میکروسکوپ فلورسنس مدل Olympus BX51 با بزرگ‌نمایی ۴۰x و ۱۰۰x صورت گرفت و آلل‌ها تعیین شدند.

نتایج و بحث

برای شناسایی آلل‌های S در دوره‌های گزینش شده (درختان دانه‌ال)، از آنجاکه این نتاج از تلاقی بین دو رقم 'تی‌جی‌ال' (S2S7) و 'کاسفورد' (S3S11) حاصل شده‌اند، هر نتاج یکی از این ترکیب‌های آلی S2S11، S2S3، S3S7 و S7S11 را خواهد داشت. از طرفی یکی از روش‌های تشخیص آلل‌های S، براساس رشد یا عدم رشد لوله‌های گرده در مادگی گل‌ها استوار است بنابراین بعد از گرده‌افشانی گل‌های ماده نتاج با گرده‌های ۴ رقم آزمایشگر به‌طور جداگانه، خامه‌های کلاله‌دار هر خوشه جدا و در محلول رنگ‌آمیزی له شدند. در نهایت رشد لوله‌های گرده یا عدم رشد آن‌ها توسط میکروسکوپ فلورسنس بررسی و شناسایی شد (شکل ۱).

خوشه‌های گل ماده زمانی که خامه آن‌ها به اندازه ۲ میلی‌متر رشد کرده بودند از شاخه‌های اخته‌شده و پوشش‌دار جمع‌آوری شدند و در درون پتری دیش‌ها، بر روی دو لایه کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. گل‌های ماده تمام درختان دورگه دانه‌الی، بلافاصله پس از جمع‌آوری با گرده‌های ۴ رقم آزمایشگر، به‌طور جداگانه در آزمایشگاه گرده‌افشانی شدند. پس از گرده‌افشانی دوباره بر روی دو لایه کاغذ صافی مرطوب در درون پتری دیش‌ها برای مدت یک شبانه‌روز قرار داده شدند. بعد از ۲۰ تا ۲۴ ساعت، از هر تلاقی ۵ خوشه (جوانه) گل ماده انتخاب و خامه‌ها به همراه کلاله‌ها از جوانه‌ها جدا شدند و در محلول آنیلین-بلو دای ۱ { ۰/۱ گرم آنیلین-بلو (متیل-بلو شماره M5528-، شرکت شیمیایی سیگما)، ۰/۷۱ گرم k_3PO_4 و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر } له شدند. برای له‌کردن خامه‌های کلاله‌دار از صفحه‌های پلاستیکی استفاده شد. پس از له‌شدن خامه‌های کلاله‌دار، توسط میکروسکوپ فلورسنس سازگاری گرده-کلاله، یعنی رشد لوله‌های گرده

1. Aniline blue dye



شکل ۱.

الف) جوانه‌زنی و رشد عادی لوله‌های گرده در حالت سازگار، بزرگنمایی ۴۰x
ب) عدم جوانه‌زنی یا جوانه‌زنی و رشد ناقص لوله‌های گرده در حالت ناسازگار، بزرگنمایی ۴۰x
ج) در حالت ناسازگار، تولید لوله‌های گرده کوتاه که در انتها به صورت حباب درآمدند، بزرگنمایی ۱۰۰x

تی‌جی‌ال، سازگاری نشان دادند یکی از جفت آلل‌های S2S3 یا S2S11 را خواهند داشت. اما هنگامی که گرده‌افشانی ناسازگار (رشد نکردن لوله‌های گرده) بین دانه‌های گرده این آزمایشگر و مادگی هر یک از نتاج رخ می‌داد، بیانگر این بود که آن نتاج در مادگی خود آلل S7 داشته است و دانه گرده تی‌جی‌ال قادر به جوانه‌زدن و ایجاد لوله گرده نشده است. زیرا در فندق وقتی ناسازگاری بین گرده و کلاله اتفاق می‌افتد که آلل یا آلل‌های s که در دانه گرده بیان می‌شوند در مادگی نیز وجود داشته باشند. آلل‌ها در مادگی فندق همیشه به صورت هم‌بارزند و هر دو بیان می‌شوند؛ پس نتاجی که در این حالت، ناسازگاری نشان دادند یکی از جفت آلل‌های S3S7 یا S7S11 خواهند بود.

گرده‌افشانی با رقم 'کاسفورد' به عنوان آزمایشگر آلل S3 گل‌های ماده گرده‌افشانی شده نتاج با دانه‌های گرده والد گرده‌دهنده 'کاسفورد'، مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفت. در مشاهدات میکروسکوپی نتاجی که گرده‌افشانی سازگاری داشتند بیانگر این بود که آن نتاج در مادگی خود فاقد آلل S3 هستند زیرا دانه‌های گرده رقم 'کاسفورد'

با مقایسه ترکیب‌های مختلف حاصل از تلاقی بین دانه‌های گرده ارقام آزمایشگر و گل‌های ماده نتاج، می‌توان آلل‌های S موجود در هر نتاج دانه‌الی را با توجه به جدول ۱ به شرح زیر مشخص کرد:

گرده‌افشانی با دانه‌های گرده رقم 'تی‌جی‌ال' به عنوان آزمایشگر آلل S7

ابتدا گل‌های ماده نتاج که با گرده والد 'تی‌جی‌ال' گرده‌افشانی شده بودند، پس از ۲۴ ساعت با میکروسکوپ فلورسنس ارزیابی شدند. در این تلاقی، گل‌های آن تعداد از نتاجی که گرده‌افشانی سازگار داشتند. به عبارت دیگر، اگر لوله‌های گرده در مادگی نتاج رشد کرده بود، نشان می‌داد که آن نتاج فاقد آلل S7 در مادگی خود هستند. زیرا دانه‌های گرده رقم 'تی‌جی‌ال' در بخش اگزین (دیپلوئید) خود آلل‌های S2S7 دارند و چون در گرده‌های فندق، بین آلل‌های s روند غالبیت خطی وجود دارد و پژوهش‌ها نشان داده است که آلل S7 بر آلل S2 غالب است. بنابراین، ژنوتیپ دانه‌های گرده در رقم 'تی‌جی‌ال' فقط به صورت S7 بیان می‌شوند و با مادگی تمام نتاجی که فاقد آلل S7 هستند، سازگار خواهد بود. پس نتاجی که با دانه گرده

گرده‌افشانی با رقم 'OSU ۲۷۸-۱۲۱' به منزله آزمایشگر

آل S11

در نهایت گل‌های گرده‌افشانی‌شده نتاج با گرده‌های این آزمایشگر با میکروسکوپ بررسی شد. رشد لوله‌های گرده در مادگی نتاج مشخص می‌کرد که آن نتاج فاقد آل S11 در مادگی خود هستند. زیرا ژنوتیپ گرده‌های این آزمایشگر آل‌های S4S11 دارد و آل S11 غالب بر آل S4 است. پس در این حالت نتاج یکی از جفت آل‌های S3S7 یا S2S3 خواهد داشت. ولی اگر مطالعات میکروسکوپی ناسازگاری را نشان می‌داد بیانگر این بود که نتاج در مادگی خود آل S11 دارند و ژنوتیپ آن‌ها به صورت S2S11 یا S7S11 خواهد بود.

در نهایت با مقایسه ترکیب‌های مختلف دانه‌های گرده آزمایشگرها با مادگی هر یک از نتاج (جدول ۱)، آل‌های S موجود در بیشتر نتاج تعیین و روابط سازگاری و ناسازگاری بین هر یک از نتاج و ارقام آزمایشگر مشخص شد (شکل ۲).

در صورت نیاز می‌توان روابط سازگاری بین این نتاج و سایر ارقام تجاری را که آل‌های S آن‌ها مشخص شده‌اند نیز تعیین کرد. آل‌های ۲۴ تا از کل نتاج تعیین شدند و در ۴ گروه آلی S2S3، S2S11، S3S7 و S7S11 قرار گرفتند. همچنین در این پژوهش بررسی‌های میکروسکوپی در دو نتاج (S2S?)، ۵۴، (S7S?) ۶۸ فقط یک آل S را مشخص کرد که نشان می‌دهد شاید این نتاج حاصل تلاقی ارقام 'تی‌جی‌ال' و 'کاسفورد' نبوده، بلکه دانه گرده آن‌ها به‌طور اتفاقی از والد گرده‌دهنده دیگر و نه از رقم 'کاسفورد' بوده است.

خودناسازگاری در برنامه‌های اصلاحی فندق جهت تلاقی‌ها را مشخص و در برخی موارد از تلاقی‌های مطلوب جلوگیری می‌کند. بنابراین، قبل از تلاقی برای

آل‌های S3S11 در بخش خارجی خود دارند و چون آل S3 در گرده‌های فندق غالب بر آل S11 است، ژنوتیپ آل‌های دانه گرده این رقم فقط به صورت S3 بیان می‌شوند و با تمام نتاجی که فاقد آل S3 در مادگی خود هستند سازگار خواهند بود. بنابراین، نتاجی که در گل‌های ماده آن‌ها رشد لوله‌های گرده صورت گرفته یکی از جفت آل‌های S2S11 یا S7S11 را خواهند داشت. ولی اگر مشاهدات میکروسکوپی در این مورد، رشد نکردن لوله‌های گرده را نشان دهد به این مفهوم است که این نتاج در مادگی خود دارای آل S3 بوده و گرده‌های رقم 'کاسفورد' قادر به جوانه‌زنی و ایجاد لوله‌های گرده نشده است. در این حالت، نتاج یکی از جفت آل‌های S2S3 یا S3S7 را خواهند داشت.

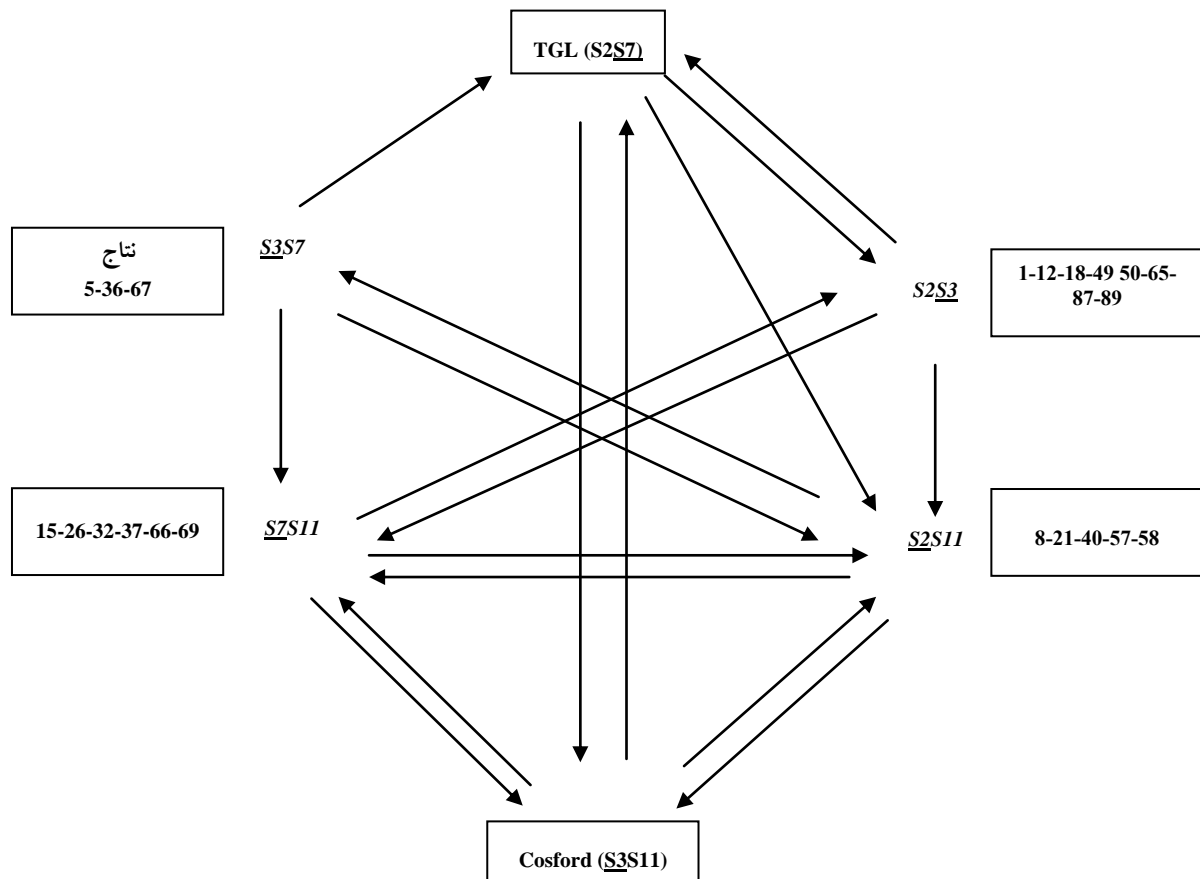
گرده‌افشانی با رقم 'توندا دی جیفونی' به عنوان آزمایشگر آل S2

در مرحله بعدی، گل‌های گرده‌افشانی‌شده نتاج با دانه‌های گرده این آزمایشگر، با میکروسکوپ فلورسنس بررسی شد. نتاجی که تلاقی‌های سازگار نشان دادند، نشان‌دهنده این بود که آن نتاج در مادگی خود فاقد آل S2 هستند. زیرا ژنوتیپ دانه گرده در این رقم به صورت S2S23 است و آل S2 غالب بر آل S23 است. بنابراین، ژنوتیپ دانه‌های گرده این رقم فقط به صورت S2 بیان شده است و با تمام نتاجی که فاقد آل S2 در مادگی هستند سازگار خواهد بود. پس در این حالت ژنوتیپ آل‌های نتاج یکی از جفت آل‌های S3S7 یا S7S11 خواهد بود. در مواردی که دانه گرده این والد با گل‌های ماده نتاج، ناسازگاری داشت بیانگر این بود که نتاج در مادگی خود آل S2 داشت؛ پس ژنوتیپ آل‌های نتاج به صورت S2S3 یا S2S11 خواهد بود.

تعیین آلل‌های S خودناسازگاری و روابط بین آنها در نتاج F1 حاصل از تلاقی دو رقم فندق (*Corylus avellana* L.)

شود. در این آزمایش اغلب گرده‌افشانی‌ها توسط میکروسکوپ فلورسنس به‌منزله گرده‌افشانی سازگار یا ناسازگار مشخص شد.

اصلاح درختان فندق یا هنگام انتخاب یک رقم به عنوان گرده‌دهنده در باغ، ضروری است آزمایش ناسازگاری گرده- کلالة صورت گیرد تا پتانسیل ترکیب ارقام مشخص



- = سازگاری دوجانبه بوده و گرده‌افشانی متقابل بین آنها امکان‌پذیر است.
- ← = سازگاری یک‌طرفه بوده و گرده‌افشانی فقط در جهت فلش امکان‌پذیر است.
- (S?) = آلل غالب در دانه گرده است و بیان می‌شود.

شکل ۲. روابط سازگاری ۴ گروه S آللی در نتاج F1 حاصل از تلاقی دو رقم 'تی‌جی‌ال' و 'کاسفورد' با یکدیگر و با والدین

کالوزی به‌شدت فلورسنس بودند. در صورتی‌که در تلاقی‌های ناسازگار جوانه‌زنی گرده‌ها اغلب کاهش یافت و دانه‌های گرده‌ای که جوانه زده بودند لوله‌های گرده کوتاه

در گرده‌افشانی سازگار، دانه‌های گرده به‌خوبی جوانه زدند، لوله‌های گرده از سطح کلالة نفوذ کردند و توده‌ای از لوله‌های موازی و طویل تولید کردند که به شکل رگه‌های

به‌شادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۳ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۴

هیبرید به احتمال زیاد حاصل تلاقی دو رقم 'تی‌جی‌ال' و 'کاسفورد' نیستند، زیرا در مادگی هر یک از نتاج واقعی حاصل از تلاقی این دو رقم، تنها دانه‌ی گرده‌ی دو رقم آزمایشگر از بین ۴ رقم آزمایشگر استفاده‌شده قادر به جوانه‌زدن و تولید لوله‌ی گرده هستند (جدول ۱).

در صورتی‌که دانه‌ی گرده‌ی بیش از ۲ رقم آزمایشگر با مادگی هر یک از نتاج سازگاری داشته باشند، بدین مفهوم است که از بین ۴ آلل S2، S3، S7 و S11 موجود در والدین، کمتر از ۲ آلل S در آن نتاج موجود است، در صورتی‌که هر نتاج واقعی یک آلل S از والد مادری و یک آلل از والد گرده‌دهنده به ارث می‌برد. هرچند در این نتاج فقط یک آلل S که از والد مادری 'تی‌جی‌ال' به ارث رسیده بود مشخص شد، آلل دوم آن‌ها که از والد گرده‌دهنده‌ی دیگری غیر از رقم 'کاسفورد' بود با این آزمایشگرهای دانه‌ی گرده شناسایی نشد.

بین رقم 'تی‌جی‌ال' و نتاجی که آلل‌های S2S3 دارند سازگاری گرده- کلاله‌ی دوجانبه وجود دارد و گرده‌افشانی متقابل بین آن‌ها امکان‌پذیر است. بنابراین، در برنامه‌های اصلاحی می‌توان از گرده‌افشانی بین رقم 'تی‌جی‌ال' و هر یک از این نتاج استفاده کرد. ضمن اینکه در احداث باغ‌های جدید رقم 'تی‌جی‌ال' را با یک یا دو نوع از این هیبریدها می‌توان به صورت ترکیبی کشت کرد و از تمام آن‌ها محصول برداشت کرد. همچنین نتاجی که آلل‌های S3S7 دارند، می‌توانند به عنوان گرده‌دهنده برای رقم 'تی‌جی‌ال' استفاده شوند. بین رقم 'کاسفورد' و نتاجی که آلل‌های S2S11 و S7S11 دارند سازگاری دوطرفه وجود دارد و گرده‌افشانی متقابل بین آن‌ها امکان‌پذیر است. بنابراین، هم در برنامه‌های اصلاحی و هم در احداث باغ‌های جدید می‌توان از ترکیب آن‌ها استفاده کرد. نتاج با آلل‌های S2S3 سازگاری دوجانبه با نتاج S7S11 داشته، ضمن اینکه به عنوان گرده‌دهنده برای نتاج با آلل‌های

تولید کردند که اغلب به شکل ویرگول^۱ (،) بودند. این لوله‌ها قادر به نفوذ از سطح کلاله نمی‌شوند و بسیاری از این لوله‌ها در انتها به شکل حباب در می‌آیند. نتایج این پژوهش با نتایج بررسی‌های انجام‌شده در این زمینه (۳، ۵، ۹ و ۱۱) کاملاً مطابقت دارد.

کیفیت گل‌های ماده‌ای که استفاده می‌شوند در واکنش به تشخیص آسان و واضح رشد لوله‌های گرده یا رشد نکردن آن‌ها، بسیار اهمیت دارد. تا حد امکان باید از گل‌های ماده‌ی تازه و باکیفیت استفاده شود. گل‌های ماده‌ای که برای مدت طولانی نگهداری می‌شدند، کیفیت خود را از دست می‌دادند. گل‌های ماده‌ی گرده‌افشانی‌شده را بعد از ۲۴ ساعت در یخچال برای مدت طولانی می‌توان نگهداری کرد، ولی نباید خامه و کلاله‌ی آن‌ها یخ بزند و به رنگ تیره دربیاید؛ زیرا در این صورت تشخیص رشد یا عدم رشد لوله‌های گرده مشکل خواهد بود. نتایج ما یافته‌های قبلی (۱۱) را تأیید می‌کند. با تعیین آلل‌های S نتاج در فندق و سایر گیاهانی که سیستم خودناسازگاری اسپوروفیتیکی دارند، نه تنها می‌توان روابط سازگاری گرده- کلاله را بین نتاج گزینش‌شده و ارقام مختلف تعیین کرد، بلکه می‌توان صحت یا عدم صحت نتاج حاصل از تلاقی بین ۲ رقم را نیز مشخص کرد. چنانکه در این پژوهش بررسی‌های میکروسکوپی نشان دادند که دانه‌های گرده‌ی ۳ رقم آزمایشگر 'تی‌جی‌ال'، 'کاسفورد' و '278-121OSU' در مادگی نتاج ۵۴ جوانه زده و لوله‌های گرده تولید کردند و تنها دانه‌ی گرده‌ی رقم 'توندا دی جیفونی' قادر به جوانه‌زنی و تولید لوله‌ی گرده نشد. همچنین در هیبرید شماره ۶۸ فقط دانه‌ی گرده‌ی رقم 'تی‌جی‌ال' قادر به جوانه‌زدن و تولید لوله‌ی گرده نشد، در صورتی‌که دانه‌های گرده‌ی ۳ رقم آزمایشگر دیگر به خوبی جوانه زدند و لوله‌ی گرده تولید کردند. این دو

1. Comma shape

واکنش‌های ناسازگار نیز تعداد کمی لوله‌گرده تولید می‌کردند. این امر نیز سبب می‌شود تشخیص گرده‌افشانی‌های سازگار از ناسازگار دچار مشکل شود. گرده‌های رقم 'نوندا دی جیفونی' که آلل غالب S2 دارد با نسبت کمتری در مقایسه با گرده‌های رقم آزمایشگر^{۱۲۱} - OSU ۲۷۸، تمایل به جوانه‌زنی و تولید لوله‌های گرده از خود نشان می‌دادند که این نتایج با یافته‌های قبلی کاملاً مطابقت دارد (۱۴). در صورتی که دانه‌های گرده رقم 'تی‌جی‌ال' واکنش ضعیفی به جوانه‌زنی از خود نشان می‌دادند. در کل واکنش متفاوت گل‌های ماده ژنوتیپ‌های مختلف نسبت به سازگاری و عدم یکنواختی دانه‌های گرده آزمایشگرهای مختلف برای جوانه‌زنی و تولید لوله‌های گرده، در برخی موارد تشخیص واکنش‌های سازگار را از ناسازگار دشوار و تعیین آلل‌های S را با مشکل مواجه می‌کند.

فیزیولوژی واکنش خودناسازگاری در تمام گونه‌هایی که خودناسازگاری اسپوروفیتیکی دارند ظاهراً مشابه بوده که بیشتر در گیاهان براسیکا^۱ و اپمو^۲ بررسی شده است. در این نوع خودناسازگاری سطح کلاله‌ها خشک می‌شود و دانه‌های گرده سه‌هسته‌ای^۳ هستند (۴ و ۵). هرچند در گرده‌های فندق، دانه‌های گرده دوهسته‌ای نیز شناسایی شده‌اند و این نشان می‌دهد که محصول فندق در این مورد استثناست (۶ و ۹).

نتیجه‌گیری

در برنامه‌های اصلاحی انتخاب والدین و نیز در گزینش ارقام گرده‌دهنده فندق باید سازگاری دانه‌گرده با کلاله بررسی شود. در این پژوهش نیز سازگاری دانه‌گرده^{۲۴}

S3S7 می‌توانند استفاده شوند. همچنین نتاج با آلل‌های S3S7 گرده‌افشانی متقابل با نتاج S2S11 داشته، ضمن اینکه به عنوان گرده‌دهنده نیز می‌توانند برای نتاج با آلل‌های S7S11 باشند. بین نتاج S2S11 و نتاج S7S11 نیز سازگاری دوجانبه وجود دارد و گرده‌افشانی متقابل امکان‌پذیر است.

البته در احداث باغ جدید فندق، نکته حائز اهمیت دیگر پس از تعیین روابط سازگاری و ناسازگاری آلل‌های S، این است که قبل از احداث باغ بایستی دوره گل‌دهی هر یک از نتاج گزینش شده دقیقاً بررسی و مشخص شود. زیرا همپوشانی دوره گل‌دهی نتاج گزینشی و ارقام کشت‌شده در یک باغ، جهت گرده‌افشانی بهینه و تولید محصول اقتصادی ضروری است. وجود برخی مسائل، تعیین آلل‌های S را توسط میکروسکوپ فلورسنس در فندق، گاهی با مشکل مواجه می‌کند. گل‌های ماده ژنوتیپ‌های مختلف فندق نسبت به سازگاری یعنی جوانه‌زنی دانه‌های گرده و تولید لوله‌های گرده واکنش متفاوتی نشان می‌دهند. درحالی‌که گل‌های ماده برخی ژنوتیپ‌ها نسبت به سازگاری معمولاً واکنش خوبی دارند، گل‌های ماده ژنوتیپ‌های دیگر عکس‌العمل ضعیفی نشان می‌دهند. هنگامی که گل‌های ماده یک ژنوتیپ نسبت به سازگاری واکنش خیلی ضعیفی نشان دهد، تشخیص گرده‌افشانی‌های سازگار از ناسازگار را دشوار می‌کند. در نتیجه تعیین دقیق آلل‌های S آن ژنوتیپ دچار مشکل می‌شود، به طوری که بروز این مشکلات در ۲ تا از نتاج بررسی شده منجر به تشخیص فقط یکی از آلل‌ها شد.

همچنین تمایل دانه‌های گرده آزمایشگرهای مختلف برای جوانه‌زنی و تولید لوله‌های گرده متفاوت است. گرده‌های رقم آزمایشگر^{۱۲۱} - OSU ۲۷۸، که آلل غالب S11 دارد، به‌طور غیرعادی تمایل نسبتاً زیادی برای جوانه‌زنی و تولید لوله‌های گرده داشتند و حتی گاهی در

1. Brassica
2. Ipomoea
3. Trinucleate

- hazelnut. Journal of American Society of Horticultural Science. 118: 814-819.
6. Heslop-Harrison Y, Heslop-Harrison JS and Heslop-Harrison J (1986) Germination of *Corylus avellana* L. (hazel) pollen: hydration and the function of oncus. Acta Botnica Neerlandica. 35: 265-284.
 7. Lagerstedt HB (1975) Filberts. In: Janick J and Moore JN (eds.) Advances in fruit breeding. Purdue University press, West Lafayette, Ind., Pp 456-489.
 8. Matton DP, Nass N, Clarke AE and Newbegin E (1994) Self-incompatibility: how plants avoid illegitimate offspring. Proceeding National Academy of Science. USA. 91: 1992-1997.
 9. Me G and Radicati L (1983) Studies on pollen incompatibility in some filbert (*Corylus avellana* L.) cv.s and selections. In pollen biology and implications for plant breeding. Mulcahy and Ottaviano Eds. Elsevier Biomedical, New York, Amsterdam, Oxford. Pp: 237-242.
 10. Me G, Radicati L, Vallania R, Miaja ML, Valentini N and Pancheri G (2000) Research on the genetics of incompatibility in *Corylus*. Acta Horticulturae. 538: 477-481.
 11. Mehlenbacher SA (1997a) Testing compatibility of hazelnut crosses using fluorescence microscopy. Acta Horticulturae. 445: 167-171.
 12. Mehlenbacher SA and Thompson MM (1988) Dominance relationships among S-alleles in *Corylus avellana* L. Theoretical Applied Genetics. 76: 669-672.
 13. Mehlenbacher SA (1991) Hazelnuts. In: Moore JN and Ballington JR (Eds). Genetic resources in temperate fruit and nut crops. Acta Horticulturae. 290: 789-836.
- درخت فندق دورگه که حاصل تلاقی کنترل شده بین رقم 'تی‌جی‌ال' به عنوان والد مادری و رقم 'کاسفورد' به عنوان گرده‌دهنده بودند را با استفاده از دانه‌های گرده ۴ رقم آزمایشگر 'تی‌جی‌ال'، 'کاسفورد'، 'توندا دی جیفونی' و 'OSU ۲۷۸-۱۲۱' که به ترتیب نشانگر آل‌های S2، S3، S7 و S11 بودند، ارزیابی شدند. نتیجه کلی پژوهش نشان داد که آل‌های نتاج در ۴ گروه آللی S2S3، S3S7، S2S11 و S7S11 قرار گرفتند. همچنین در این پژوهش بررسی‌های میکروسکوپی در ۲ نتاج (S2S?) و ۵۴ (S7S?) فقط یک آل S را مشخص کرد و آن نشان می‌دهد که شاید این نتاج حاصل تلاقی ارقام 'تی‌جی‌ال' و 'کاسفورد' نبوده، بلکه دانه گرده آن‌ها به‌طور اتفاقی از والد گرده‌دهنده دیگر و ۹ از رقم 'کاسفورد' بوده است.

منابع

1. Bassil NV and Azarenko AN (2001) RAPD markers for self-incompatibility in *Corylus avellana* L. Acta Horticulturae. 556: 537-543.
2. Beyhan N and Odabas F (1997) The investigation of compatibility relationships of some hazelnut cultivars. Acta Horticulturae. 445: 173-177.
3. Erdogan V and Mehlenbacher SA (2001) Incompatibility in wild *Corylus* species. Acta Horticulturae. 556: 163-169.
4. Franklin FCH, Lawrence MJ and Franklin Tong VE (1995) Cell and molecular biology of incompatibility in flowering plants. International Review of Cytology. 158: 1- 64.
5. Hampson CR, Azarenko AN and Soeldner A (1993) Pollen-stigma interactions following compatible and incompatible pollinations in

تعیین آلل‌های S خودناسازگاری و روابط بین آنها در نتاج F1 حاصل از تلاقی دو رقم فندق (*Corylus avellana* L.)

14. Mehlenbacher SA (1997b) Revised dominance hierarchy for S-alleles in *Corylus avellana* L. Theoretical Applied Genetics. 94:360-366.
15. Smith DC and Mehlenbacher SA (1994) Use of Tyvek housewarp for pollination bags in breeding hazelnut (*Corylus avellana* L.). Hortscience. 29: 918.
16. Thompson MM (1979a) Genetics of incompatibility in *Corylus avellana* L. Theoretical Applied Genetics. 54: 113-116.
17. Thompson MM (1979b) Incompatibility alleles in *Corylus avellana* L. cultivars. Theoretical Applied Genetics. 55:29-33.
18. Thompson MM, Lagerstedt HB and Mehlenbacher SA (1996) Hazelnut. In: Janick Jand Moore JN.(eds.). Fruit Breeding, Vol.3: Nuts John Wiley & Sons, New York, P: 125-184.