The University of Tehran Press

Iranian Journal of Horticultural Science

Online ISNN: 2008-482X

Homepage: http:// ijhs.ut.ac.ir/

Investigation of Growth Regulators Profile in Reproductive Organs of Tissue Culture-Derived and Offshoot-Derived 'Barhee' Date Palm

Maryam Boroujerdnia[1]✉, Seyyed Samih Marashi[2], Seyyed Nasser Mousavi[3]

1. Corresponding Author, Date Palm and Tropical Fruit Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Ahwaz, Iran. E-mail: boroujerdnia@gmail.com
2. Date Palm and Tropical Fruits Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahwaz, Iran. E-mail: samihmarashi@gmail.com
3. Date Palm and Tropical Fruit Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Ahwaz, Iran. E-mail: nassermousavi969@google.com

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 17 May 2023

Received in revised form: 26 July 2023

Accepted: 30 August 2023

Published online: 22 December 2023

Keywords:

Abscisic acid,

Fruit set,

Parthenocarpic fruit,

Pollination.

ABSTRACT

This study was conducted in order to investigate the changes in the growth regulators related to fruit setting in the pollination season on both tissue culture-derived and offshoot-derived date palms cv. Barhee (10 years old) in the Date Palm and Tropical Fruit Research Center of Ahvaz city. At the beginning of spring, palm trees were selected from each group of tissue culture and offshoot trees and sampling of flowers and fruits was done in the three stages including: spath appearance, ripe spath and 2 weeks after pollination in three replications. In order to evaluate fruit setting, three spathes in each palm (1-2 days before natural opening) were pollinated with Ghanami cultivar pollen by traditional method. The plant hormones including auxin (IAA and IBA), gibberellin (GA1, GA3, GA4, GA9), cytokinin (Zeatin and Kinetin), abscisic acid and jasmonic acid were measured in the flower or fruit samples collected from tissue culture and offshoot trees. Five weeks after pollination, fruit set percentage, parthenocarpic fruits percentage and flower and fruit drop percentage were recorded. The results showed that tissue culture derived plants had less fruit set percentage and more seedless fruit and fruit drop percentages compared to off shoot derived plants. Also, the fruit yield in the tissue culture plants was lower than off shoot derived plants. The levels of gibberellin, auxin, and cytokinin hormones in the off shoot derived plants were higher than tissue culture plants in most of the measured stages. The tissue culture plants had a higher amount of abscisic acid and jasmonic acid than offshoot plants. By using multiple linear regression analysis and superior model selection, the amount of abscisic acid and jasmonic acid of flower and fruit had a negative relationship with the amount of fruit set. The fruit setting was positively correlated with the amount of kinetin, indole acetic acid, GA3, GA4 and GA9 of flowers and fruits, while had a negative correlation with the amount of abscisic acid and jasmonic acid.

Cite this article: Boroujerdnia, M., Marashi, S. S. & Mousavi, S. N. (2023). Investigation of Growth Regulators Profile in Reproductive Organs of Tissue Culture Derived and offshoot 'Barhee' Date Palm. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 54 (4), 595-609. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.358802.2106

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.358802.2106

Extended Abstract

Introduction

Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) is an important fruit crop in arid and semi-arid regions of the world. Today, the development of tissue culture propagation methods has enabled date palm to be rapidly propagated on a large scale. One of the main weaknesses of this method is the possibility of the appearance of abnormal phenotypes such as delayed flowering, low levels of fruiting and the formation of parthenocarpic fruits. There is a difference in the amount of abnormalities among date palm cultivars. The low levels of natural fruiting due to the high production of parthenocarpic fruits or high fruit drop in some cultivars of tissue culture date palm compared to the trees obtained from offshoot date palm, especially in the Barhee cultivar, leads to inappropriate yields and economic losses to gardeners. Growth regulators play an important role in fruit formation during the stages of flowering, pollination and fertilization. Therefore, this study was conducted to compare the hormonal

levels of the flowers and fruits in date trees derived from tissue culture and offshoot and their relationship with the amount of fruiting in two groups of trees.

Materials and Methods

This study was conducted in order to investigate the changes in the growth regulators related to fruit setting in the pollination season on both tissue culture-derived and offshoot-derived date palms cv. Barhee, in ate Palm and Tropical Fruit Research Center of Ahvaz city. At the beginning of spring, palm trees were selected from each group of tissue culture and offshoot trees and sampling of flowers and fruits was done in the three stages including spath appearance, ripe spath and 2 weeks after pollination in three replications. In the pollination stage, three spathes in each palm (1-2 days before natural opening) were pollinated with Ghanami cultivar pollen. The plant hormones: auxin (IAA and IBA), gibberellin (GA_1, GA_3, GA_4, GA_9), cytokinin (Zeatin and Kinetin), abscisic acid and jasmonic acid were measured in the flower or fruit samples collected from tissue culture and offshoot trees. Five weeks after pollination, fruit set percentage, parthenocarpic fruits percentage and flower and fruit drop percentage were recorded.

Results and Discussion

The results showed that tissue culture derived plants had less fruit set percentage and more parthenocarpic fruits and fruit drop percentages as compared to off shoot derived plants. Also, the fruit yield in the tissue culture derived plants was lower than off shoot derived plants. The levels of gibberellin, auxin, and cytokinin hormones in the off shoot derived plants were higher than tissue culture plants in most of the measured stages. The tissue culture plants had a higher amount of abscisic acid and jasmonic acid than offshoot plants. By using multiple linear regression analysis and superior model selection, the amount of abscisic acid and jasmonic acid of flower and fruit had a negative relationship with the amount of fruit set. The fruit setting was positively correlated with the amount of kinetin, indole acetic acid, GA_3, GA_4 and GA_9 of flowers and fruits, while had a negative correlation with the amount of abscisic acid and jasmonic acid . Therefore, higher parthenocarpic percentage in tissue culture-derived date palms compared to offshoot-derived date may be due to the difference in hormone levels or different ratios of hormones in them. The failure of normal fruiting in the tissue culture derived plants was probably due to many interrelated events that lead to a slow growth of pollen tube at early stages of fruit growth and which may possibly be accentuated by the relatively high ABA contents during this period.

Conclusion

According to the results of this research, one of the causes of unfavorable fruiting in tissue culture-derived date palms is the change in the internal hormone profile of the flowers and fruits compared to the offshoot-derived trees. Changes in the levels of internal hormones accompany with a decrease in the growth of the pollen tube lead to lack of fertilization or incomplete fertilization and as a result, the formation of parthenocarpic fruits and finally, a decrease in fruiting and fruit growth.

نشریه علوم باغبانی ایران، دوره ۵۴، شماره ۴

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۷۹۳۰

Homepage: http://ijhs.ut.ac.ir//

بررسی پروفایل تنظیم‌کننده‌های رشد در اندام‌های زایشی درختان کشت‌بافتی و حاصل از پاجوش خرمای رقم برحی

مریم بروجردنیا [۱]✉ | سیدسمیح سمیح مرعشی [۲] | سید ناصر موسوی [۳]

۱. نویسنده مسئول، پژوهشکده خرما ومیوه‌های گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات،آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز ، ایران. رایانامه: boroujerdnia@gmail.com

۲. پژوهشکده خرما و میوه های گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران. رایانامه: samihmarashi@gmail.com

۳. پژوهشکده خرما ومیوه‌های گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران. رایانامه: nassermousavi969@google.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۵/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۰۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۱۰/۰۱

کلیدواژه‌ها:

آبسزیک‌اسید، گرده‌افشانی، میوه بکربار، میوه‌نشینی.

چکیده

این پژوهش به‌منظور بررسی روند تغییرات تنظیم‌کننده‌های رشد مرتبط با میوه‌نشینی در فصل گرده‌افشانی در نخل‌های خرمای کشت‌بافتی و نخل‌های ده‌ساله حاصل از پاجوش رقم برحی (۱۰ ساله) در نخلستان ستاد پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری در شهرستان اهواز انجام شد. در اوایل فصل بهار از درختان کشت‌بافتی و پاجوشی، نمونه‌برداری گل و میوه در سه مرحله ظهور اسپات، اسپات رسیده و ۲ هفته پس از گرده‌افشانی در سه تکرار صورت گرفت. به منظور ارزیابی میوه دهی، سه اسپات دیگر در هر نخل ۱ تا ۲ روز قبل از باز شدن طبیعی با گرده نر غنامی به روش سنتی گرده‌افشانی شد. در نمونه‌های گل و میوه جمع‌آوری شده از درختان کشت‌بافتی و پاجوشی، هورمون‌های گیاهی اکسین (ایندول بوتیریک اسید و ایندول استیک اسید)، جیبرلین ((GA1, GA3, GA4, GA9، سایتوکینین (کاینتین و زئاتین)، جاسمونیک‌اسید و آبسیزیک‌اسید اندازه‌گیری شدند. در هفته پنجم پس از گرده‌افشانی، درصد میوه‌نشینی، درصد میوه‌های بکربار و درصد ریزش گل و میوه در سه اسپات گرده‌افشانی شده در هر نخل مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که گیاهان کشت‌بافتی نسبت به گیاهان حاصل از پاجوش دارای درصد میوه‌نشینی کمتر و میزان میوه‌های بکربار و ریزش گل و میوه بیشتری بودند. عملکرد میوه در گیاهان کشت‌بافتی کمتر از گیاهان حاصل از پاجوش بود. میزان هورمون‌های جیبرلین، اکسین و سایتوکینین در گیاهان حاصل از پاجوش در اغلب مراحل اندازه‌گیری شده بالاتر از گیاهان کشت‌بافتی بود. گیاهان کشت‌بافتی میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید بالاتری نسبت به گیاهان پاجوشی داشتند. با استفاده از تجزیه رگرسیون خطی چندگانه و گزینش مدل برتر، میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک اسید گل و میوه، رابطه منفی با میزان میوه‌نشینی داشتند. درصد میوه‌نشینی با میزان کاینتین، ایندول استیک اسید، GA3، GA4 و GA9 گل و میوه همبستگی مثبت داشت و میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید دارای همبستگی منفی با میوه‌نشینی بود.

استناد: بروجردنیا، مریم؛ مرعشی، سیدسمیح سمیح؛ و موسوی، سید ناصر (۱۴۰۲). بررسی پروفایل تنظیم‌کننده‌های رشد در اندام‌های زایشی درختان کشت‌بافتی و حاصل از پاجوش خرمای رقم برحی. *نشریه علوم باغبانی ایران*، ۵۴ (۴)، ۶۰۹-۵۹۵. DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.358802.2106

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijhs.2023.358802.2106

مقدمه

نخل خرما گیاهی تک‌لپه و دوپایه متعلق به تیره خرمائیان[1] است که به طور وسیع در نواحی خشک خاورمیانه و آفریقای شمالی کشت می‌شود (Al-Khayri & Jameel, 2001). تکثیر نخل خرما از طریق بذر به دلیل دوپایه بودن این گیاه و در نتیجه بروز پدیده تفرق صفات که غالباً با بروز صفات نامطلوب همراه است، کاربرد تجاری ندارد. در تکثیر به‌وسیله بذر همواره نیمی از نتاج حاصله نر خواهند بود. علاوه‌بر این، هنوز روش ساده‌ای برای تشخیص نهال نر و ماده از یکدیگر وجود ندارد (Abahmane, 2011). تکثیر به روش پاجوش نیز به دلیل رشد کُند، محدود بودن تعداد آن در طول دوره زندگی یک درخت (۱۰ تا ۳۰ عدد بسته به رقم و شرایط محیطی)، بالا بودن هزینه‌های نگهداری تا رسیدن پاجوش به وزن مناسب برای انتقال (۱۲ تا ۲۵ کیلوگرم)، تلفات بخشی از نهال‌ها بعد از کشت و خطر انتقال بیماری‌ها، یک روش پیشرفته تجاری برای تکثیر نخل خرما محسوب نمی‌شود (Jain, 2012). بنابراین، تکثیر نخل خرما از طریق کشت بافت جایگزین مناسبی برای روش‌های معمول تکثیر می‌باشد و امکان تکثیر سریع درختان مورد نیاز برای توسعه نخلستان‌ها را فراهم می‌نماید. با وجود این، یکی از نقاط ضعف اصلی این روش، امکان ظهور فنوتیپ‌های غیرطبیعی مانند تأخیر در گلدهی، سطوح پائین میوه‌نشینی و تشکیل میوه‌های بکربار[2] است (Bouhouche *et al*., 2007). در بین ارقام خرمای کشت‌بافتی از نظر میزان ناهنجاری‌ها اختلاف وجود دارد، براساس بررسی‌های صورت گرفته در بسیاری از کشورها در رقم برحی حاصل از کشت بافت، میزان تولید میوه‌های بکربار به ۵۹ تا ۸۶ درصد می‌رسد. سطوح پایین تشکیل میوه طبیعی به واسطه تولید بالای میوه‌های بکربار و یا ریزش زیاد میوه‌ها در برخی ارقام خرمای کشت بافتی در مقایسه با درختان حاصل از پاجوش منجر به عملکرد نامناسب و خسارت‌های فراوانی به اقتصاد نخل‌داران شده است. از این رو، این پژوهش با هدف شناسایی علل احتمالی این پدیده در نخل‌های خرمای کشت بافتی رقم برحی صورت گرفته است.

پیشینه پژوهش

در نخل خرما، گل‌های ماده از ۳ برچه مجزا[3] تشکیل شده‌اند که در شرایط نمو طبیعی میوه، فقط یک برچه بعد از گرده‌افشانی و لقاح، میوه را تشکیل می‌دهد. بنابراین برچه‌ای که لقاح‌یافته رشد و نمو سریع‌تری دارد و ۲ برچه دیگر اندکی پس از گرده‌افشانی تخریب شده و ریزش می‌کنند. در صورتی‌که گرده‌افشانی در نخل خرما صورت نگیرد، هر ۳ برچه تلقیح نشده تمایل به رشد و تشکیل میوه‌های سه برچه‌ای (بکربار) با اندازه کوچک دارند (Reuveni, 1986). عدم لقاح منجر به تشکیل میوه بکربار می شود. بنابراین، رشد دیواره تخمدان بدون وقوع لقاح و نمو بذر رخ می‌دهد. با کاربرد خارجی تنظیم‌کننده‌های رشدی مانند جیبرلیک‌اسید، اکسین‌ها و سایتوکینین‌ها امکان تشکیل میوه‌های بکربار وجود دارد که نشان می‌دهد تنظیم‌کننده‌های رشد نقش مهمی در تشکیل میوه در زمان لقاح ایفا می‌کنند (Talon *et al*., 1992).

پژوهش‌های زیادی با هدف شناسایی علل احتمالی تشکیل میوه نامطلوب در نخل‌های کشت‌بافتی رقم برحی صورت گرفته است. نتایج این پژوهش‌ها نشان می‌دهد تنظیم‌کننده‌های رشد نقش مهمی در تشکیل میوه طی مراحل گلدهی، گرده‌افشانی و لقاح ایفا می‌کنند. در نخل خرما، زمان گلدهی توسط عوامل درونی و بیرونی کنترل می‌شود. عوامل محیطی مانند نور، طول روز و دما در تنظیم گلدهی نقش دارند. همچنین هورمون‌های گیاهی مانند جیبرلیک‌اسید نقش مهمی در کنترل گلدهی ایفا می‌کنند (Hadi *et al*., 2015). عموما در صورت عدم لقاح، رشد میوه محدود شده یا رخ نمی‌دهد که احتمالا به دلیل ناکافی بودن سطوح هورمون‌های درونی است (Pharis & King, 1985). تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد، بذرهای در حال نمو، هورمون‌هایی تولید می‌کنند که منجر به تغییراتی در دیواره تخمدان و سپس تشکیل میوه طبیعی می‌شود. در برخی گیاهان

1. Palmaceae
2. Parthenocarpic
3. Carple

مانند گوجه‌فرنگی، نارنگی و پرتقال، عدم لقاح منجر به تشکیل میوه‌های بکربار می‌شود. در این میوه‌ها مسیرهایی وجود دارد که رشد دیواره تخمدان و پیری، بدون وقوع لقاح و نمو بذر تنظیم می‌شود (Gorguet *et al*., 2005; Talon, 1990). به‌طور طبیعی میوه‌های بکربار، سطوح بالاتری جیبرلیک‌اسید و اکسین دارند، بنابراین این نوع میوه‌ها را با کاربرد خارجی تنظیم‌کننده-های رشد مانند جیبرلیک‌اسید، اکسین‌ها و سایتوکینین‌ها می‌توان تولید کرد (Talon *et al*., 1992). نقش فعالیت‌های هورمونی در تشکیل میوه گونه‌های گیاهی مختلف به اثبات رسیده است (Dorcey *et al*., 2009; Liu *et al*., 2008). رشد و نمو میوه‌های بذردار و بی‌بذر خرما توسط هورمون‌های درونی مانند اکسین و جیبرلین تنظیم می‌شود (Shabana *et al*., 2006). دانه‌های گرده، بذرهای نارس و بافت تخمدان، هورمون‌های اکسین و جیبرلین تولید می‌کنند که باعث تقسیم سلولی و بزرگ شدن تخمدان می‌شود و سلول‌های تخمدان را به تولید اکسین بیشتر تحریک می‌کنند، بنابراین اندازه سلول و تعداد میوه‌های در حال نمو را کنترل می‌کنند. عدم وجود بذر در خرما باعث کاهش رشد تخمدان می‌شود، زیرا میزان هورمون‌های درونی به شدت کاهش می‌یابد که نتیجه آن تشکیل غیرطبیعی میوه‌های بی‌بذر کوچک و با کیفیت پائین است (Mater, 1991). گزارش شده است که هم در نخل‌های کشت‌بافتی و هم در نخل‌های پاجوشی، جوانه‌زنی و رشد لوله گرده در ساختمان مادگی به خوبی صورت می‌گیرد، اما علت عدم باروری گل‌ها و در نتیجه تشکیل میوه بکربار در رقم برحی، تشکیل نشدن کیسه جنینی در درصدی از گل‌های نخل‌های کشت بافتی است (Kavand, 2016). همچنین، محلول‌پاشی برگی جیبرلیک‌اسید در غلظت‌های (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) طی مرحله گلدهی اندکی بعد از باز شدن گل خرمای رقم سیوی منجر به تشکیل میوه‌های بی‌بذر (بکربار) شد (Abou-Aziz *et al*., 1982).

روش‌شناسی پژوهش

این تحقیق به‌منظور بررسی روند تغییرات تنظیم‌کننده‌های رشد مرتبط با میوه‌نشینی در فصل گرده‌افشانی روی نخل‌های خرمای جوان بارور حاصل از کشت‌بافت و پاجوش رقم برحی (۱۰ساله) در نخلستان ستاد پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری در شهرستان اهواز به مدت یک سال انجام شد (آزمایش با ۳ تکرار و در مجموع بر روی ۶ اصله درخت انجام شد). با آغاز فصل گرده‌افشانی، نخل‌های مورد آزمایش روزانه بازدید شده و روی هر درخت ۳ اسپات برای ثبت میوه‌نشینی و ۳ اسپات برای نمونه‌برداری و اندازه‌گیری هورمون انتخاب شدند. نمونه‌برداری گل و میوه با قطع نوک رشته‌های گل‌آذین در سه مرحله : ۱- ظهور اسپات (هنگامی که نوک اسپات حدود ۵ سانتی‌متر از الیاف بالا آمده باشد)،۲- اسپات رسیده (یک تا دو روز قبل از شکوفایی) و ۳- دو هفته پس از گرده‌افشانی از سه اسپات در هر درخت صورت گرفت و نمونه‌ها در فویل آلومینیومی درون تانک ازت مایع به سرعت منجمد شده و در آزمایشگاه به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. برای ثبت میوه‌نشینی، سه اسپات در هر نخل و ۱ تا ۲ روز قبل از باز شدن طبیعی با گرده نر رقم غنامی قرمز به روش سنتی گرده‌افشانی شد. در نمونه‌های گل یا میوه جمع‌آوری شده از درختان کشت‌بافتی و پاجوشی، هورمون‌های گیاهی اکسین (ایندول بوتیریک اسید و ایندول استیک اسید)، جیبرلین (GA_1, GA_3, GA_4, GA_9)، سایتوکینین (کاینتین و زئاتین)، جاسمونیک‌اسید و آبسیزیک-اسید با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC[1]) اندازه‌گیری شدند (Dobrev & Kamínek, 2002).

سنجش هورمون‌های گیاهی

استخراج و پیش‌خالص‌سازی هورمون‌های گیاهی با استفاده از روش های Doberv & Kaminek (2002) و Ge *et al.* (2007) با کمی تغییرات انجام شد. نمونه‌های گیاهی در نیتروژن مایع با استفاده از هاون پودر شدند و سپس با متانول ۸۰ درصد و سدیم دی‌اتیل‌دی‌تیوکاربامات به عنوان آنتی‌اکسیدانت مخلوط شدند و پس از یک شب (۱۲ ساعت) قرارگیری در دمای ۴

1. High-performance liquid chromatography

درجه سانتی‌گراد استخراج انجام شد. هورمون‌های برچسب‌دار شده با ایزوتوپ پایدار به عنوان استانداردهای داخلی اضافه شدند. مایع رویی جمع‌آوری شد و باقی‌مانده آن به مدت ۶۰ دقیقه دوباره استخراج شد. مایع‌های رویی استخراج شده طی دو مرحله قبل با هم ترکیب شدند، و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تحت خلاء به جهت جداسازی متانول بخار شدند. رسوب های حاصل در ۲ میلی لیتر اسید فرمیک مایع ۱ مولار حل شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها توسط جریان جاذبه بر روی یک کارتریج ۳- cc Oasis anion MCX SPE بارگذاری شدند. کارتیج‌های SPE با ۲ میلی‌لیتر متانول و ۲ میلی‌لیتر اسید فرمیک ۱ مولار از قبل فعال شدند، سپس با ۲ میلی‌لیتر اسید فرمیک ۱ مولار، ۲ میلی لیتر متانول و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید آمونیوم ۰/۳۵ مولار شسته شدند. سایتوکینین‌های قلیایی با ۲ میلی‌لیتر هیدروکسیدآمونیوم ۰/۳۵ مولار حل شده در متانول ۶۰ درصد شسته شدند (E_1). هورمون‌های مورد سنجش با خاصیت اسیدی (آبسیزیک‌اسید، جیبرلیک‌اسید، سالیسیک‌اسید، اکسین‌ها و جاسمونیک‌اسید) با ۲ میلی‌لیتر متانول جداسازی شدند و محلول شوینده در خلاء خشک شد. باقیمانده آن در ۲ میلی لیتر اسید فرمیک ۱ مولار مجددا حل شد و بر روی یک کارتریج cc Oasis anion MCX SPE-۳ از قبل فعال شده، مطابق آنچه در بالا بیان شد، بارگذاری شد و با ۲ میلی لیتر اسید فرمیک ۱ مولار، ۲ میلی‌لیتر هیدروکسیدآمونیوم ۰/۱ مولار و ۲ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم آمونیوم حل شده در متانول ۶۰ درصد شسته شد. هورمون‌های مورد نظر با ۲ میلی‌لیتر اسید فرمیک ۱/۲۵ مولار در متانول ۷۰ درصد جداسازی شدند (E_2). سپس محلول‌های E_1 و E_2 ترکیب و تحت خلاء خشک شدند. ماده حاصل در ۵۰ میکرولیتر فاز متحرک اولیه HPLC حل شد و از طریق فیلتر ۰/۲۵ میکرومتر (با قطر ۴ میلی‌متر) فیلتر شد. ده میکرولیتر محلول نمونه به سیستم HPLC_MSn تزریق شد.

درصد تشکیل میوه، درصد میوه‌های بکربار (بی‌بذر) و درصد ریزش گل و میوه

هفته پنجم پس از گرده‌افشانی، درصد میوه‌نشینی، درصد میوه‌های بکربار و درصد ریزش گل و میوه، از طریق شمارش تعداد میوه‌های بذردار و بی‌بذر و جاهای خالی گل و میوه (گل‌ها و میوه‌های ریزش‌یافته) روی ۹ خوشه‌چه جدا شده از آن‌ها (۳ خوشه‌چه از هر خوشه)، ثبت شد (Marashi *et al*., 2007).

۱۰۰× (تعداد کل گل‌ها/ تعداد میوه‌های بذردار)= درصد تشکیل میوه

۱۰۰ × (تعداد کل گل‌ها/ تعداد میوه‌های بی‌بذر)= درصد میوه‌های بی بذر

۱۰۰ × (تعداد کل گل‌ها/ جاهای خالی گل و میوه)= درصد ریزش (ریزش گل و میوه)

عملکرد خوشه

پس از برداشت خوشه‌های یک نخل، میوه‌های هر خوشه از خوشه‌چه‌ها جدا و در پوشش مربوطه جمع‌آوری شد. وزن کل میوه‌های بذردار هر خوشه اعم از خارک، رطب، خرما و خشکیده روی هم، با کمک ترازوی دیجیتالی با قابلیت توزین حداکثر ۳۰ کیلوگرم و دقت ۱۰ گرم اندازه‌گیری شد و میانگین وزن کل میوه‌های یک خوشه در نخل محاسبه شد.

روش تجزیه آماری

آزمایش در قالب تجزیه رگرسیونی انجام شد. برای این منظور، گزینش متغیرهای مستقل و مدل‌سازی، با کمک روش حداکثر افزایش ضریب تبیین[1] صورت گرفت. برآورد ضرایب هر مدل با روش کمترین مربعات[2] انجام و معنی‌دار بودن مدل و ضرایب آن از طریق تجزیه واریانس بررسی گردید. سپس مدل رگرسیون چندگانه برتر برای توصیف تغییرات میزان تشکیل میوه از میان بهترین مدل‌های برازش شده با تعداد متغیر مختلف انتخاب شد. مدل رگرسیون چندگانه برگزیده، از نظر فرض‌های

1Maximum R2 improvement (maxR)
2Least squares

اصلی صحت و کفایت مدل یعنی نرمال بودن توزیع باقی‌مانده، یکنواختی واریانس‌های باقی‌مانده‌ها، استقلال باقی‌مانده‌ها و خطی بودن مدل و نیز از نظر عدم وجود هم‌خطی بین متغیرهای مستقل موجود در مدل مورد ارزیابی قرار گرفت. نرمال بودن باقی‌مانده‌ها، به کمک آزمون شاپیرو ویلک[1]و نیز ترسیم مطالعه نمودار احتمال نرمال باقی‌مانده‌ها، نمودار میله‌ای باقی مانده‌ها در برابر منحنی توزیع نرمال و نمودار توزیع نرمال در برابر توزیع چندک‌های باقیمانده‌ها، بررسی شد. جهت بررسی یکنواختی واریانس‌های باقی‌مانده‌ها، استقلال باقی‌مانده‌ها و خطی بودن مدل، از ترسیم و مطالعه نمودارهای پراکنش باقیمانده‌ها در برابر مقادیر هر یک از متغیرهای مستقل و مقادیر پیش‌بینی شده متغیر وابسته، استفاده شد. در نهایت، وجود هم‌خطی میان متغیرهای مستقل موجود در مدل، با محاسبه و بررسی مقادیر ریشه مشخصه[2]و عامل تورم واریانس[3]برای هر یک از متغیرهای مذکور، مورد آزمون قرار گرفت. از نرم افزار اکسل برای رسم نمودارها استفاده شد و تحلیل داده‌ها و معنی‌دار بودن اختلاف بین آن‌ها با آزمون t در سطح احتمال خطای ۵ درصد توسط نرم‌افزار آماری SAS9.1 انجام شد.

یافته‌های پژوهش

از نظر درصد تشکیل میوه، میوه‌های بکربار و ریزش گل و میوه بین گیاهان کشت‌بافتی و حاصل از پاجوش اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت (جدول ۱). میزان میوه‌های بی‌بذر و ریزش یافته در گیاهان کشت‌بافتی بیشتر از گیاهان پاجوشی بود، در صورتی‌که میزان تشکیل میوه در گیاهان پاجوشی نسبت به کشت‌بافتی بالاتر بود.

جدول ۱. مقایسه میانگین‌های درصد تشکیل میوه، میوه‌های بی‌بذر و درصد ریزش میوه خرما بین گیاهان حاصل از پاجوش و کشت بافت با استفاده از آزمون t

صفت	گیاهان پاجوشی	گیاهان کشت بافتی	آزمون t
درصد میوه‌های بی‌بذر	۰	۱۱/۶۱	۵/۸۸**
درصد ریزش گل و میوه	۲۳/۶۶	۴۴/۱۶	۶/۰۲**
درصد تشکیل میوه	۷۶/۳۴	۴۴/۲۳	۱۰/۶۴**

ns، * و** : به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. (منبع: یافته های تحقیق)

از نظر صفات کمی میوه (طول، عرض و حجم میوه، وزن میوه، طول، عرض و حجم هسته، وزن هسته) بین گیاهان کشت‌بافتی و حاصل از پاجوش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲). میزان رطوبت نسبی میوه و عملکرد خوشه به‌طور معنی‌داری در گیاهان پاجوشی بیشتر از گیاهان کشت بافتی بود.

1Shapiro- Wilk test
2Eigenvalue
3Variance inflation factor

جدول ۲ . مقایسه میانگین‌های صفات کمی میوه نخل خرما بین گیاهان حاصل از پاجوش و کشت‌بافت با استفاده از آزمون t

صفت	گیاهان پاجوشی	گیاهان کشت‌بافتی	آزمونt
طول میوه (سانتی‌متر)	۳/۱۷	۳/۱۲	۰/۶۳^{ns}
عرض میوه (سانتی‌متر)	۲/۳۷	۲/۴۳	۱/۱۰^{ns}
حجم میوه (سانتی‌متر مکعب)	۹	۹/۳۳	۰/۶۳^{ns}
وزن میوه (گرم)	۹/۲۲	۸/۳۸	۱/۳۵^{ns}
طول هسته (سانتی‌متر)	۱/۷۸	۱/۸۱	۰/۸۴^{ns}
عرض هسته (سانتی‌متر)	۲/۳۷	۲/۴۳	۱/۱^{ns}
حجم هسته (سانتی‌متر مکعب)	۰/۶۳	۰/۶۱	۰/۶۷^{ns}
وزن هسته (گرم)	۰/۷۵	۰/۶۹	۱/۳۸^{ns}
رطوبت نسبی (درصد)	۱۵/۰۸	۱۰/۵۹	۳/۴۲*
عملکرد (کیلوگرم)	۱۱/۷۶	۶/۲۱	۴/۶۷**

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. (منبع: یافته های تحقیق)

در مرحله ظهور اسپات، میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید به طور معنی‌داری (در سطح ۵ درصد) در گیاهان کشت‌بافتی از پاجوشی بالاتر بود (جدول ۳). میزان GA_3 در گیاهان حاصل از پاجوش به‌طور معنی‌داری در سطح ۱ درصد بیشتر از گیاهان کشت بافتی بود. بین گیاهان کشت‌بافتی و پاجوشی از نظر سایر تنظیم‌کننده‌های رشد تفاوت معنی‌داری در این مرحله مشاهده نشد.

جدول ۳. مقایسه میانگین میزان تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله ظهور اسپات نخل خرما بین گیاهان حاصل از پاجوش و کشت‌بافتی با استفاده از آزمون t

صفت	گیاهان پاجوشی	گیاهان کشت بافتی	آزمون t
زئاتین (نانوگرم برگرم)	۲/۲۱	۱/۹۳	۱/۵۴^{ns}
کاینتین (نانوگرم برگرم)	۳/۳	۲/۵۹	۱/۵۹^{ns}
ایندول استیک اسید (نانوگرم برگرم)	۱۷۲/۳۶	۱۶۲/۶۵	۱/۹۵^{ns}
ایندول بوتیریک اسید (نانوگرم برگرم)	۵/۰۴	۵/۱۲	۰/۴۱^{ns}
آبسیزیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۳/۴۶	۵/۳۸	۴/۳۶*
جاسمونیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۳/۲۴	۴/۰۸	۳/۳۴*
جیبرلیک اسید ۱ (نانوگرم برگرم)	۴/۷۸	۴/۶۱	۰/۲۵ ^{ns}
جیبرلیک اسید ۳ (نانوگرم برگرم)	۱۰/۱۵	۶/۶۷	۵/۷۹ **
جیبرلیک اسید ۴ (نانوگرم برگرم)	۴/۶	۳/۹	۲/۲۷^{ns}
جیبرلیک اسید ۹ (نانوگرم برگرم)	۵/۵۶	۴/۶	۱/۱۹^{ns}

ns، * و ** : به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. (منبع: یافته های تحقیق)

در مرحله اسپات رسیده، بین گیاهان کشت‌بافتی و پاجوشی از نظر میزان ایندول‌استیک‌اسید، آبسیزیک‌اسید، جاسمونیک‌اسید، GA_3، GA_4 و GA_9 اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید در گیاهان کشت‌بافتی بیشتر از پاجوشی بود و در گیاهان پاجوشی میزان ایندول‌استیک‌اسید، GA_3، GA_4 و GA_9 به نسبت بالاتر از کشت‌بافتی داشتند. از نظر سایر تنظیم‌کننده‌های رشد اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه میانگین‌های میزان تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله اسپات رسیده بین گیاهان نخل خرمای حاصل از پاجوش و کشت‌بافتی با استفاده از آزمون t

صفت	گیاهان پاجوشی	گیاهان کشت بافتی	آزمون t
زئاتین (نانوگرم برگرم)	۲/۲۲	۲/۱۲	۰/۴۶^{ns}
کاینتین (نانوگرم برگرم)	۳	۲/۴۱	۱/۳۱^{ns}
ایندول استیک اسید (نانوگرم برگرم)	۲۲۳/۹۳	۱۴۴/۲۱	۱۴/۸۵**
ایندول بوتیریک اسید (نانوگرم برگرم)	۶/۲۵	۵/۴۴	۲/۶۲^{ns}
آبسیزیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۳/۰۵	۵/۶۷	۴/۹۲**
جاسمونیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۲/۵۶	۴/۰۵	۴/۹۶**
جیبرلیک اسید ۱ (نانوگرم برگرم)	۵/۹۴	۴/۸۱	۲/۰۱ ^{ns}
جیبرلیک اسید ۳ (نانوگرم برگرم)	۱۲/۷۲	۶/۷۶	۶/۱۰**
جیبرلیک اسید ۴ (نانوگرم برگرم)	۵/۷۶	۳/۴۸	۳/۲۵*
جیبرلیک اسید ۹ (نانوگرم برگرم)	۸/۰۴	۴/۳۱	۹/۵۲**

ns، * و ** : به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. (منبع: یافته های تحقیق)

در مرحله دو هفته پس از گرده‌افشانی، از نظر میزان کاینتین و ایندول‌استیک‌اسید بین گیاهان کشت‌بافتی و پاجوشی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در گیاهان پاجوشی، میزان کاینتین و ایندول‌استیک‌اسید بیشتر از گیاهان کشت‌بافتی بود. بین دو گروه از نظر سایر تنظیم‌کننده‌های رشد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۵).

جدول ۵. مقایسه میانگین میزان تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله دو هفته پس از گرده‌افشانی بین نخل‌های خرما حاصل از پاجوش و کشت‌بافتی با استفاده از آزمون t

صفت	گیاهان پاجوشی	گیاهان کشت بافتی	آزمون t
زئاتین (نانوگرم برگرم)	۱/۹۸	۱/۷۶	۰/۵۲^{ns}
کاینتین (نانوگرم برگرم)	۲/۴	۱/۸	۴/۴*
ایندول استیک اسید (نانوگرم برگرم)	۱۷۵/۰۵	۱۴۷/۰۶	۴/۵۳*
ایندول بوتیریک اسید (نانوگرم برگرم)	۴/۸۶	۵/۰۴	۰/۳۴^{ns}
آبسیزیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۴/۳۴	۵/۳۲	۱/۶۸^{ns}
جاسمونیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۲/۹۱	۴/۱	۲/۰۱^{ns}
جیبرلیک اسید ۱ (نانوگرم برگرم)	۵/۷	۵/۱۵	۰/۳۴^{ns}
جیبرلیک اسید ۳ (نانوگرم برگرم)	۶/۶۷	۶/۳۳	۱/۳۷^{ns}
جیبرلیک اسید ۴ (نانوگرم برگرم)	۳/۷۲	۴/۴۱	۱/۷۳^{ns}
جیبرلیک اسید ۹ (نانوگرم برگرم)	۵/۵۵	۴/۲۶	۲/۵^{ns}

ns، * و ** : به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. (منبع: یافته های تحقیق)

آماره‌های ساده متغیرهای مستقل و وابسته (خصوصیات) بررسی شده در جدول ۶ ارائه شده است. هیچ‌یک از خصوصیات بررسی شده، داده پرت یعنی داده‌ای که ۳ انحراف معیار یا بیشتر از میانگین فاصله داشته باشد، نداشتند. بنابراین، مراحل بعدی تجزیه رگرسیون چندگانه قابل انجام بود.

جدول ۶. آماره‌های ساده متغیرهای بررسی شده در نخل‌های خرمای کشت بافتی و پاجوشی

متغیر	تعداد مشاهده	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
زئاتین (نانوگرم برگرم)	۱۸	۲/۰۴	۰/۳۴	۱/۴۰	۲/۴۹
کاینتین (نانوگرم برگرم)	۱۸	۲/۵۸	۰/۶۳	۱/۶۷	۳/۸۷
ایندول استیک اسید (نانوگرم برگرم)	۱۸	۱۷۰/۸۷	۲۷/۷۵	۱۳۹/۶۵	۲۳۱/۴۷
ایندول بوتیریک اسید (نانوگرم برگرم)	۱۸	۵/۲۹	۰/۶۱	۴/۳۵	۶/۶۹
آبسیزیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۱۸	۴/۵۴	۱/۱۶	۲/۵	۶/۲۱
جاسمونیک‌اسید (نانوگرم برگرم)	۱۸	۳/۵۹	۰/۷۶	۲/۲۶	۴/۷۱
جیبرلیک اسید ۱ (نانوگرم برگرم)	۱۸	۵/۱۶	۰/۷۶	۴/۰۳	۶/۶۸
جیبرلیک اسید ۳ (نانوگرم برگرم)	۱۸	۸/۲۱	۲/۵۹	۵/۶۲	۱۳/۷۳
جیبرلیک اسید ۴ (نانوگرم برگرم)	۱۸	۴/۳۱	۰/۹۳	۳/۱۵	۶/۸۸
جیبرلیک اسید ۹ (نانوگرم برگرم)	۱۸	۵/۳۹	۱/۴۷	۳/۸۳	۸/۷
درصد تشکیل میوه	۱۸	۶۰/۲۸	۱۶/۸۱	۳۹/۹۹	۸۰/۲۹

(منبع: یافته های تحقیق)

نتایج انجام مراحل گزینش متغیر و مدل‌سازی و گزینش مدل رگرسیون چندگانه برتر برای توصیف تغییرات میزان تشکیل میوه از میان بهترین مدل‌های برازش شده با تعداد متغیر مختلف در جداول ۷ و ۸ آمده است. بررسی نتایج تجزیه واریانس رگرسیون خطی چندگانه با دو متغیر مستقل گزینش شده از میان خصوصیات بررسی شده نشان داد که میزان تشکیل میوه، رابطه خطی بسیار معنی‌داری (در سطح خطای کمتر از ۰/۱ درصد) با متغیرهای گزینش شده دارد (جدول ۷). ضریب تبیین این مدل رگرسیون نشان می‌دهد که با استفاده از دو متغیر مستقل مزبور، حدود ۷۶/۴۶ درصد یعنی بخش عمده‌ای از تنوع تشکیل میوه بین گیاهان کشت‌بافتی و حاصل از پاجوش به خوبی قابل توجیه است. نتایج جدول ۸ نشان می دهد که همه‌ی ضرایب مدل برگزیده ارتباط معنی‌داری با میزان تشکیل میوه دارند.

جدول ۷. تجزیه واریانس رگرسیون خطی ۲ متغیره برگزیده

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معنی‌داری
رگرسیون	۲	۳۶۷۱/۸۷	۱۸۳۵/۷۳	۲۴/۳۷	کمتر از ۰/۰۰۰۱
باقی‌مانده	۱۵	۱۱۳۰/۱۱	۷۵/۳۴		
کل تصحیح شده	۱۷	۴۸۰۱/۵۸			

ضریب تبیین=۰/۷۶۴۶(منبع: یافته های تحقیق)

جدول ۸. برآورد ضرایب رگرسیون خطی ۸ متغیره برگزیده

متغیر	درجه آزادی	برآورد ضرایب	اشتباه معیار	مقدار t	سطح معنی‌داری
عرض از مبدأ	۱	۱۳۰/۴۰	۱۰/۴۰	۱۲/۵۴	کمتر از ۰/۰۰۰۱
آبسیزیک‌اسید (X_1)	۱	−۷/۴۶	۲/۲	−۳/۳۹	۰/۰۰۴
جاسمونیک‌اسید (X_2)	۱	−۱۰/۳۸	۳/۳۵	−۳/۰۹	۰/۰۰۷

درصد میوه‌نشینی (Y)، متغیر وابسته است. (منبع: یافته های تحقیق)

نتایج تجزیه باقی‌مانده‌ها نشان داد که هیچ‌یک از فرض‌های اصلی صحت و کفایت مدل یعنی نرمال بودن باقی‌مانده‌ها، یکنواختی واریانس باقی‌مانده‌ها، استقلال باقی‌مانده‌ها و خطی بودن مدل نقض نگردید. بر اساس جدول ۹ نیز مشاهده می‌شود

که مقادیر ریشه مشخصه و عامل تورم واریانس هیچ‌کدام از متغیرهای مستقل موجود در مدل به ترتیب کمتر از ۰/۰۱ و بالاتر از ۱۰ نیست. بنابراین، مشکل هم‌خطی میان متغیرهای مذکور در مدل برگزیده وجود ندارد.

جدول ۹. نتایج بررسی وجود هم‌خطی میان متغیرهای مستقل در مدل رگرسیون برگزیده

	X_1	X_2
ریشه مشخصه	۱/۶	۰/۴۳
عامل تورم واریانس	۱/۴۸	۱/۴۸

(منبع: یافته های تحقیق)

بدین ترتیب، شایستگی مدل رگرسیون خطی دو متغیره برگزیده جهت توصیف تغییرات تشکیل میوه به طور کامل مورد تایید قرار گرفت و معادله آن بر طبق متغیرهای معرفی شده در جدول ۸، به شرح زیر ارائه می‌گردد:

$$Y= ۱۳۰/۴۰ -۷/۴۶X_1- ۱۰/۳۸X_2$$

بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون خطی چندگانه و انتخاب مدل برتر (جداول ۷ و ۸)، مهم‌ترین فاکتورهای مرتبط با تشکیل میوه از میان خصوصیات بررسی شده و میزان و نوع تأثیر هریک از این فاکتورها روی میزان تشکیل میوه (با توجه به میزان و علامت ضرایب مربوطه در مدل رگرسیون برگزیده) مشخص شد. آنچه در این میان از اهمیت بالاتری برخوردار است، درک نوع تأثیر فاکتورهای مرتبط بر میزان تشکیل میوه است. در این بررسی، میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید گل و میوه، رابطه منفی با میزان میوه‌نشینی داشتند (جدول ۱۰).

جدول ۱۰. همبستگی بین درصد میوه‌نشینی و عناصر غذایی اسپات نخل خرما

	زئاتین	کاینتین	ایندول استیک اسید	ایندول بوتیریک اسید	آبسیزیک اسید	جاسمونیک اسید	جیبرلیک اسید ۱	جیبرلیک اسید ۳	جیبرلیک اسید ۴	جیبرلیک اسید ۹
درصد میوه‌نشینی	۰/۲۱^{ns}	۰/۵*	۰/۷۱**	۰/۱۵^{ns}	-۰/۷۸**	-۰/۷۶**	۰/۳۶^{ns}	۰/۶۴**	۰/۴۶*	۰/۶۹**

ns ، * و ** به ترتیب عدم همبستگی و همبستگی در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد(منبع: یافته های تحقیق)

درصد تشکیل میوه با میزان کاینتین، ایندول‌استیک‌اسید، GA_3، GA_4 و GA_9 درگل و میوه همبستگی مثبت معنی‌داری داشت (جدول ۱۰). به عبارت دیگر، با افزایش میزان این دو هورمون، تشکیل میوه افزایش می‌یابد. بنابراین کاهش تشکیل میوه در گیاهان کشت‌بافتی نسبت به گیاهان حاصل از پاجوش ممکن است با تغییرات میزان این دو هورمون در ارتباط باشد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده مشخص شد که درصد تشکیل میوه با میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید گل و میوه تازه تشکیل شده همبستگی منفی معنی‌داری دارد (جدول ۱۰) یعنی با افزایش غلظت این دو هورمون تشکیل میوه کاهش می‌یابد، بنابراین این احتمال وجود دارد که افزایش میزان این دو هورمون روی کاهش درصد تشکیل میوه نخل‌های خرمای کشت‌بافتی در مقایسه با درختان حاصل از پاجوش مؤثر باشد.

بحث

نتایج حاضر نشان داد که گیاهان حاصل از پاجوش، ۴۲ درصد تشکیل میوه بیشتری نسبت به گیاهان کشت‌بافتی داشتند، در صورتی‌که میزان ریزش گل و میوه در گیاهان حاصل از پاجوش ۴۶/۴ درصد کمتر از گیاهان کشت بافتی بود. همچنین، میزان تشکیل میوه‌های بکربار (بی‌بذر) در گیاهان کشت‌بافتی در حدود ۱۲ درصد نسبت به گیاهان حاصل از پاجوش بیشتر بود. میزان عملکرد میوه در گیاهان کشت‌بافتی ۴۷ درصد کمتر از گیاهان حاصل از پاجوش بود. در مراحل مختلف بین میزان

هورمون‌های اندازه‌گیری شده در دو گروه تفاوت‌هایی مشاهده شد. میزان هورمون‌های جیبرلین، اکسین، سایتوکینین در گیاهان حاصل از پاجوش در اغلب مراحل اندازه‌گیری شده بالاتر از گیاهان پاجوشی بود. در صورتی‌که گیاهان کشت‌بافتی میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید بالاتری نسبت به گیاهان پاجوشی داشتند. اختلاف در میزان هورمون‌ها و نسبت‌های متفاوت بین آن‌ها در دو گروه گیاهان کشت‌بافتی و پاجوشی احتمالا در میزان تشکیل میوه نقش مهمی ایفا می‌کند. چندین هورمون از قبیل ایندول‌استیک‌اسید، جیبرلیک‌اسید و آبسیزیک‌اسید در نمو میوه خرما نقش اساسی ایفا می‌کنند. تحقیقات نشان می‌دهد که اکسین نقش مهمی در نمو گل به میوه ایفا می‌کند. کاربرد اکسین به صورت خارجی به گل گرده‌افشانی نشده باعث نمو گل به میوه می‌شود، بنابراین این هورمن می‌تواند جایگزین سیگنال‌هایی شود که توسط گرده‌افشانی و لقاح القا می‌شود. آنالیزهای مولکولی نقش برجسته سیگنال‌دهی اکسین در تحریک و القای انتقال گل به میوه را تائید کرده است Pandolfini, (2009). میزان ایندول‌استیک‌اسید بالاتر در گیاهان حاصل از پاجوش نسبت به کشت‌بافتی، احتمالا به این علت است که بذر نابالغ منبع تولیدکننده اکسین می‌باشد و تجمع اکسین‌ها در سلول‌های طویل شده بافت تخمدان میوه گیاهان حاصل از پاجوش در مقایسه با گیاهان کشت‌بافتی بیشتر است. میزان اکسین بالاتر در میوه‌های بذردار در مقایسه با میوه‌های بکربار در تحقیقات دیگران نیز گزارش شده است (Mohammad Attaha *et al*., 2015; Shabana *et al*., 2006).

تفاوت در میزان جیبرلین گیاهان کشت‌بافتی و پاجوشی نخل خرما نشان می‌دهد که جیبرلین‌ها نیز نقش مهمی در رشد میوه و نمو بذر دارند. نقش جیبرلین‌های فعال در القای تشکیل میوه در چندین گونه گیاهی باغی گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که افزایش میزان جیبرلین در تخمدان گرده‌افشانی شده به علت افزایش بیان ژن‌های سنتزکننده جیبرلین است. از طرف دیگر، کاربرد بازدارنده سنتز جیبرلین رشد میوه را محدود می‌کند (Pandolfini, 2009). نقش جیبرلین‌ها در تشکیل میوه با بررسی گوجه‌فرنگی بکربار جهش‌یافته نیز مورد تأیید قرار گرفته است، درحقیقت این جهش‌ها باعث افزایش سطح جیبرلین‌ها و افزایش بیان ژن‌های سنتزکننده جیبرلین شده است (Dorcey *et al*., 2009). میزان بالای جیبرلیک‌اسید در گیاهان پاجوشی در مقایسه با کشت‌بافتی، نقش مهمی در تشکیل میوه و القای گل به میوه‌های طبیعی یا غیرطبیعی ایفا می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که میزان بالای جیبرلیک‌اسید در میوه‌های طبیعی در مقایسه با میوه‌های بکربار ممکن است سلول‌های تخمدان را به رشد، طویل شدن و القای تولید اکسین (کمک در شکل‌دهی میوه‌های طبیعی) تحریک کند (Shabana *et al*., 2006). از طرف دیگر، میزان پائین جیبرلیک‌اسید در میوه‌های غیرطبیعی ممکن است در تشکیل میوه‌های بکربار نقش داشته باشد. در تحقیق حاضر میزان میوه‌های بکربار و ریزش میوه در گیاهان کشت‌بافتی بیشتر از گیاهان پاجوشی بود، همچنین گیاهان کشت‌بافتی آبسیزیک‌اسید بالاتری داشتند. آبسیزیک‌اسید به عنوان یک عامل ریزش در میوه‌های در حال نمو نخل خرما در نظر گرفته شده است، این هورمون سبب می شود که از سه برچه گل، دو عدد تحلیل رفته و طی تشکیل میوه طبیعی ریزش می‌کنند. در میوه‌های در حال نمو، مقدار آبسیزیک‌اسید عموماً با مقادیر ایندول‌استیک‌اسید و جیبرلیک‌اسید در ارتباط است (Setha *et al*., 2004) و احتمالا تفاوت در میزان این هورمون‌ها باعث ریزش میوه و تشکیل میوه نامطلوب می‌شود. نتایج نشان داد که دو هفته پس از گرده‌افشانی میزان سیتوکنین به‌طور معنی‌داری در میوه گیاهان حاصل از پاجوش نسبت به کشت بافتی بالاتر بود. بین میزان سیتوکنین‌ها و تقسیم سلولی ارتباط تنگاتنگی وجود دارد. مرحله اول رشد میوه، با تقسیم سلولی و افزایش تعداد سلول‌ها همراه است، علاوه‌بر این میزان سیتوکنین نقش مهمی در تقسیم سلولی و تقویت رشد میوه ایفا می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که کاربرد خارجی سیتوکنین‌ها بر روی گل‌ها قبل از لقاح در برخی گونه‌های گیاهی منجر به شروع رشد میوه می‌شود (Pandolfini, 2009). در مطالعه حاضر ترکیبات هورمونی گل یا میوه گیاهان کشت‌بافتی و پاجوشی مشابه هم بود. نتایج تجزیه رگرسیون خطی چندگانه و انتخاب مدل برتر نشان داد که میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید گل و میوه، رابطه منفی با میزان تشکیل میوه داشت. همبستگی منفی این دو هورمون با میزان تشکیل میوه و همبستگی مثبت با میزان هورمون‌های کاینتین، ایندول‌استیک‌اسید، GA_3، GA_4 و GA_9 نشان داد درصد کم تشکیل میوه طبیعی و تشکیل میوه‌های بکربار در گیاهان کشت بافتی ممکن است به دلیل تفاوت در سطوح هورمونی و یا نسبت‌های مختلف هورمون‌ها در آن‌ها باشد.

نتایج Ali-Dinar & Alkhateeb, (2005) نشان داد که در طی مراحل مهم جنسی (ورود لوله‌گرده و لقاح)، میزان آبسیزیک‌اسید نسبت به جیبرلیک‌اسید و ایندول‌استیک‌اسید در درختان کشت بافتی جوان بالاتر بود. در درختان خرمای کشت‌بافتی رقم برحی، جوانه‌زنی دانه‌گرده بر روی کلاله به صورت طبیعی صورت گرفت، اما رشد لوله گرده نسبت به گیاهان پاجوشی آهسته‌تر بود. بنابراین، نقصان در تشکیل میوه درختان کشت‌بافتی جوان به علت عواملی است که منجر به کاهش رشد لوله گرده و تلقیح تخمک طی مراحل اولیه رشد میوه می‌شود که ممکن است با میزان بالای آبسیزیک‌اسید در طی این دوره مرتبط باشد. گیاهان کشت‌بافتی تشکیل میوه کمتری نسبت به گیاهان حاصل از پاجوش داشتند، تحقیقات نشان داده است که درصد زیادی از نهال‌های کشت‌بافتی دارای کلاله گل معیوب هستند و درصد تلقیح آن‌ها نیز پائین است. در گل‌های گیاهان حاصل از پاجوش، پس از جوانه‌زنی دانه‌گرده بر روی کلاله، لوله‌گرده در خامه رشد کرده و وارد برچه و تخمدان می‌شود، اما در گیاهان کشت‌بافتی درصد پائینی از لوله‌های گرده وارد تخمدان می‌شوند (Cohen *et al*., 2004). همچنین Kavand (2016) بیان کرده است که در نخل‌های کشت‌بافتی و پاجوشی، جوانه‌زنی و رشد لوله گرده در ساختمان مادگی به خوبی صورت می‌گیرد، اما علت عدم باروری گل‌ها و در نتیجه تشکیل میوه بکربار در رقم برحی، تشکیل نشدن کیسه جنینی در بخشی از گل‌های نخل‌های کشت بافتی است.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق، یکی از علل تشکیل میوه نامطلوب نخل‌های خرمای کشت بافتی، تغییر در پروفایل هورمون‌های درونی گل‌ها و میوه‌های این درختان در مقایسه با نخل‌های حاصل از پاجوش است. عدم لقاح یا لقاح ناقص منجر به تشکیل میوه بکربار می‌شود که عموماً تغییرات سطوح هورمون‌های درونی در تشکیل آن نقش ایفا می‌کنند. میزان هورمون-های جیبرلین، اکسین و سایتوکینین در گیاهان حاصل از پاجوش در اغلب مراحل اندازه‌گیری شده بالاتر از گیاهان کشت‌بافتی بود، در صورتی‌که گیاهان کشت‌بافتی میزان آبسیزیک‌اسید و جاسمونیک‌اسید بالاتری نسبت به گیاهان پاجوشی داشتند. بنابراین، تغییر در میزان هورمون‌های درونی یا برهم خوردن نسبت بین هورمون‌ها باعث وقایعی می‌شود که منجر به کاهش رشد لوله‌گرده، تلقیح ناقص و در نهایت کاهش تشکیل میوه و رشد میوه می‌شود.

منابع

کاوند، عبدالرضا. ۱۳۹۵. مطالعه جنبه‌های آناتومیکی و مولکولی عدم باروری احتمالی نخل‌های خرمای حاصل از کشت‌بافت رقم برحی از سنین باردهی متفاوت در استان خوزستان. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. *مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال*، کرج، ۶۴ صفحه.

مرعشی، سید سمیح. ۱۳۸۵. بررسی سازگاری و تعیین خواص کمی و کیفی میوه ارقام خرما در منطقه طبس. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. *موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور*. اهواز، ۱۳۳ صفحه.

REFERENCES

Abahmane, L. (2011). Date palm micropropagation via organogenesis. In Jain, S. M., Al-Khayri, J. M., Johnson, D.V (Eds). *Date palm biotechnology*, (pp. 69-90). Springer, Dordrecht. https://doi.org/ 10.1007/978-94-007-1318-5_5.

Abou-Aziz, A. B., Maxiuous, S. S., Desouky, I. A., & Samara. N. R. E. (1982, March). *Effects of GA3 and hand pollination on the yield and quality of Sewy dates*. Proceeding of The First Symposium on The Date Palm. (pp. 258-268). King Faisal University, Al-Hassa, Saudi Arabia.

Ali-Dinar, H. M., & Alkhateeb, A. A. (2005, May). *Barhee fruit setting problems at Kingdom of*

Saudi Arabia: Research approaches to understand the physiological and physical events of the phenomenon. Proceeding the International Workshop on True-to-Types of Date Palm Tissue culture-derived Plants; Morocco, 121-127.

Al-Khayri, J. M. (2001). Optimization of biotin and thiamine requirements for somatic embryogenesis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 37, 453-456. https://doi.org/10.1007/s11627-001-0079-x.

Bouhouche, N., Al-Mazroui, H. S., & Zaid, A. (2007). Fertilization Failure and Abnormal Fruit Set in Tissue Culture-Derived Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.). III International Date Palm Conference, ISHS. *Acta Horticulturae*, 736, 225-232. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.736.20.

Cohen, Y., Korchinsky, R., & Tripler, E. (2004). Flower abnormalities cause abnormal fruit setting in tissue culture-propagated date palm (*Phoenix dactylifera* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79, 1007-1013. https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511853.

Dobrev, P., & Kamínek, M. (2002). Fast and efficient separation of cytokinins from auxin and abscisic acid and their purification using mixed-mode solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 950(1), 21-29. https://doi.org/ 10.1016/S0021-9673(02)00024-9.

Dorcey, E., Urbez, C., Blazquez, M. A., Carbonell, J., & Perez-Amador, A. (2009). Fertilization-dependent auxin response in ovules triggers fruit development through modulation of gibberellin metabolism in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 58, 318-332. https://doi.org/ 10.1104/pp.110.160044.

Ge, L., Peh, C. Y. C., Yong, J. W. H., Tan, S. N, Hua, L., & Ong, E. S. (2007). Analyses of gibberellins by capillary electrophoresis–mass spectrometry combined with solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1159 (1), 242–249. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.05.041.

Gorguet, B., Van-Heusden, A. W., & Lindehout, P. (2005). Parthenocarpic fruit development in tomato. *Plant Biology*, 7, 131-139. https://doi.org/10.1055/s-2005-837494

Hadi, S., Al-Khalifah, N. S., & Moslem, M. A. (2015). Hormonal basis of 'Shees' fruit abnormality in tissue culture derived plants of date palm. *International Journal of Agriculture and Biology*, 17(3), 607-612. https://doi.org/ 10.17957/IJAB/17.3.14.088.

Jain, S. M. (2012). Date palm biotechnology: Current status and prospective-an overview. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24, 386-399.

Kavand, A. R. (2016). *Study of the anatomical and molecular aspects of probable fruitlessness of date palms derived from tissue culture of Berhi cultivar in Khuzestan*. Final report of project, Seed and Plant Certification Research Institute, Karaj, 64 pp. (In Persian).

Liu, X., Liao, M., Deng, G., Chen, S., Ren, Y., & Liu, W. (2008). Changes in endogenous hormone and polyamines of fruits during growth and development of pear fruit. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4, 40-47. https://doi.org/ 10.17660/eJHS.2020/85.4.6.

Mater, A. M. (1991). *Date palm culture and its product*. Al-Hikma Press, University of Basrah, Iraq. 420 pp.

Marashi, S. S. (2007). *Study on the adaptability and determination of quantitative and qualitative fruit characteristics of date cultivars in Tabas region*. Final Report of Project, Date palm and tropical fruits research institute. (In Persian).

Mohamad Attaha, A. H., & Malik Al-Saadi, S. A. A. (2015). Anatomical and hormonal studies of floral and fruiting behavior of *phoenix dactylifera* cv. Barhee. *International Journal of Current Advanced Research*, 4(12), 531-536.

Pandolfini, T. (2009). Seedless fruit production by hormonal regulation of fruit set. *Nutrients*, 1, 168-177. https://doi.org/ 10.3390/nu1020168.

Pharis, R. P., & King, R. (1985). Gibberellins and reproductive development in seed plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 36, 517-568. https://doi.org/10.1146/annurev.pp.36.060185.002505.

Reuveni, O. 1986. Dates. In Monselise, S. P. (ed.), *CRC Handbook of Fruit Set and Development.* CRC Press, Florida, USA. 119-144

Setha, S., S. Kondo, Hirai, N., & Ohigashi, H. (2004). Xanthoxin, abscisic acid and its metabolite levels associated with apple fruit development. *Plant Science*, 166, 493-499. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.020.

Shabana, H. R., Zaid, A. W., & Al- Sanbul, A. K. I. (2006). *Date fruits, physiology, harvest, handling and post-harvest caring*. FAO, Rome, Italy. 132 pp.

Talon, M., Hadden, P., & Primo-Millo, E. (1990). Gibberellins in *Citrus sinensis*: a comparison between seeded and seedless varieties. *Journal of Plant Growth Regulation*, 9, 201-206. https://doi.org/10.1007/BF02041963.

Talon, M., Zacarias, L., & Primo-Millo, E. (1992). Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiology*, 99, 1575-1581. https://doi.org/10.1104/pp.99.4.1575.