علوم و تحقیقات بذر ایران
سال نهم/ شماره اول/ ۱۴۰۱ (۲۶ - ۱۵)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2022.6142

ارزیابی دورگ‌گیری بین و درون‌گونه‌ای کلن‌های صنوبر *Populus nigra* و *P. deltoides*

فاطمه احمدلو[1*]، عباس قمری زارع[2]، محسن کلاگری[3]، آزاده صالحی[4]، مهدیه صالحی وژده نظری[5]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۶

چکیده

تحقیق حاضر با هدف استفاده از توانمندی ارقام پر محصول معرفی‌شده برای تولید دورگ‌های جدید و ارزیابی صفات مورفولوژیک و آناتومیک نهال‌های دورگ بین‌گونه‌ای *P. nigra* و *P. deltoides* انجام شد. در پروژه حاضر از پایه‌های نر و ماده کلن‌های برتر صنوبر نیگرا و دلتوئیدس که به لحاظ عملکرد تولید چوب و کیفیت تنه مناسب، عملکرد مناسبی داشته و به بخش اجرا معرفی شده‌اند، استفاده شد. در زمستان ۹۷ جوانه‌های حامل گل از شاخه‌های گلدار پایه مـــاده به‌طول حدود ۶۰ الی ۱۰۰ سانتی‌متر از شاخه‌های انتهایی درخت جدا و در گلدان‌های ۲۰ لیتری حاوی مخلوط خاک، ماسه و کود دامی کاشته شدند. برای تهیه دانه گرده، تعداد کافی از شاخه‌های گل‌دار از شاخه درخت نر هر یک از گونه‌های *P. nigra* و *P. deltoides* جدا و در داخل ظرف آب قرار داده شده و با باز شدن شاتون‌های گل نر، گرده‌ها جمع‌آوری شدند. عمل گرده‌افشانی به‌وسیله قلموی آغشته به گرده به‌صورت گرد و غبار انجام شد. پس از رسیدگی کامل کپسول‌ها، خوشه‌ها (کاتکین) جمع‌آوری شده و تمامی کپسول‌های دورگ و آزاد گرده‌افشان سترون شده، به‌صورت شکاف‌داده‌شده در شرایط محیط کشت ½ MS فاقـد هورمون، کشت شدند. گیاهچه‌های تولیدشـــده در اندازه بلندتر از ۱ تا ۲ سانتی‌متری به جی‌فی‌پات با مخلوطی از پرلیت و پیت‌ماس و ماسه منتقل و در گلخانه نگهداری شدند و مشخصه‌های درصد آلودگی و ارتفاع گیاهچه‌های درون شیشه و تعداد گیاهچه‌های منتقل‌شده به جی‌فی‌پات یادداشت شد. پس از سازگاری تدریجی، نهال‌های دورگ به گلدان‌های بزرگ انتقال یافتند و پس از دو سال بر اساس صفات کمی مانند ارتفاع، قطر یقه، شاخه و مشخصه‌های کمی و آناتومی برگ مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین ارتفاع شاتون، تعداد و وزن کپسول در تلاقی آزادگرده‌افشان وجود داشت. تعداد ۲۸ نتاج از تلاقی‌های مختلف صنوبر به‌دست آمد. بیش‌ترین ارتفاع ساقه در تلاقی‌های PD♀xPS♂ (*P. deltoides* Marquette x *P. deltoides* Samsun) و PD♀xPB♂ (*P. deltoides* Marquette x *P. nigra betulifolia* 17/13) و بیش‌ترین زاویه شاخه، سطح برگ و سطح ویژه برگ در تلاقی آزادگرده‌افشان PD♀ (*P. deltoides* Marquette) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: دورگ‌گیری، صنوبر، کپسول، محیط کشت، نهال، وراثت‌پذیری

۱- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. fatemeh_ahmadloo@yahoo.com
۲- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. ghamari-zare@rifr-ac.ir
۳- دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. calagari@rifr-ac.ir
۴- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. salehi.azadeh@yahoo.com
۵- کارشناس محقق پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. mahdiyehsalehi1@gmail.com
*نویسنده مسئول: fatemeh_ahmadloo@yahoo.com

مقدمه

سهولت کاشت قلمه و تولید کلن و نیز دوپایه‌بودن درختان صنوبر امکان استفاده از تلاقی‌های بینگونه‌ای و دستیابی به ارقام دورگ با حداکثر تولید را فراهم می‌کند. جنس صنوبر (*Populus*) دارای گونه‌های متعددی می‌باشد و از آن‌جاکه صنوبرها اغلب از طریق قلمه و به‌صورت غیرجنسی تکثیر می‌شوند، ساختار ژنتیکی آن‌ها نسل به نسل ثابت مانده و در مواردی با بروز بیماری‌های جدید گیاهی که در برخی موارد به‌صورت گسترده بروز می‌کنند و با کاهش قابلیت‌هایی چون ظرفیت فتوسنتزی و تولید زیست‌توده، از ارزش تجاری‌شان کاسته می‌شود (Covarelli *et al*., 2013). به‌همین دلیل تولید ژنوتیپ‌های جدید در صنوبرها و استفاده از روش‌های تکثیری که بتواند از میزان آلودگی‌های بیماری‌زای درونی آن‌ها بکاهدT ضروری است. هدف اصلی اصلاح درختان صنوبر، تولید دورگ‌های جدیدی است که دارای صفاتی برتر از والدین به لحاظ تولید کمی و کیفی چوب و نیز سازگار به شرایط مختلف اکولوژیک باشند. از اواسط قرن هجدهم پس از ورود گونه *P. deltoides* از آمریکا به اروپا و گونه *P. nigra* از اروپا به آمریکا، دورگ‌های طبیعی بین گونه‌های مورد اشاره، شناسایی شدند (FAO, 1979). اولین بار در سال ۱۷۷۵ میلادی تعدادی از پایه‌های صنوبرT به‌عنوان دورگ طبیعی بین گونه‌های فوق شناخته شدند. بسیاری از دورگ‌های طبیعی صنوبر در طول قرن نوزدهم شناخته شده و مورد استفاده قرار گرفتند. در ایران نیز دورگ‌های طبیعی صنوبر حاصل از تلاقی بذور هیبرید *P. deltoides* 69/55 و *P. deltoides* 77/51 در صفرابسته گیلان جمع‌آوری گردید. تعداد ده اصله از نهال‌های تولیدشده که دارای بهترین رشد ارتفاعی و قطری بوده و نیز عاری از آفات و بیماری بودند، انتخاب و مورد کشت قرار گرفتند (Hemati and Modir Rahmati, 1998). برنامه حفاظت و بومی‌سازی جنس صنوبر در آلمان از سال ۱۹۴۸ توسط موسسه ژنتیک جنگل و اصلاح درختان جنگلی و از سال ۱۹۵۵ در ایستگاه تحقیقات جنگل در هان‌موندن شروع شد (Mohrdiek, 1979). با شروع قرن بیستم در سال ۱۹۱۲ اصلاح ژنتیکی صنوبرها در باغ Kew انگلستان آغاز شد که نخستین انجام هیبریداسیون صنوبر می‌باشد (Heinze, 2008). بعدها بسیاری از برنامه‌های اصلاحی بر روی گونه‌های صنوبر گسترش یافت. تلاقی بین دو گونه*P. termula* و *P. tremuloides* با هدف دستیابی به هتروزیس در میان هیبریدها انجام گردید (Wolf and Brandt, 1995) که به معنای برتری عملکرد نتاج نسبت به متوسط عملکرد والدین و یا نسبت به عملکرد والد غالب است. تلاقی‌های بین‌گونه‌ای و درون‌گونه‌ای انجام شده در بخش ایگروس (یکی از بخش‌های پنج‌گانه جنس صنوبر) عمدتاً بین گونه‌های *P. nigra* و *P. deltoides* انجام گرفته است. موفقیت تلاقی بین و درون-گونه‌ای به گرده‌افشانی دقیق و کنترل‌شده بستگی دارد و در مواردی که ناسازگاری وجود دارد، می‌توان با اعمال تکنیک نجات جنین به‌صورت آزمایشگاهی بر آن غلبه نمود. چنین تکنیکی برای تلاقی ناموفق*P. deltoides* x *P. nigra* از طریق کشت جنین پس از تشکیل کپسول انجام‌پذیر است (Michel *et al*., 1989).

برای دستیابی به اهداف و نتایج کوتاه‌مدت در فرآیندهای اصلاحی صنوبر، تلاقی‌های گسترده در میان پایه‌های مطلوب در سطح درون و بین‌گونه‌ای، ارزیابی نتاج حاصله، سپس انتخاب بهترین پایه‌های به‌دست‌آمده برای کشت است. سیستم آمیزشی درون و بین‌گونه‌ای مکرراً باید انجام شود و آزمایش‌های سازگاری با شرایط محیطی مختلف نیز ضرورت دارد. پدیده هتروزیس یا اکتساب صفات اختصاصی توجیهی برای کاربرد آمیزش بین‌گونه‌ای است. گسترش کلن‌های تولیدشده می‌تواند واریانس ژنتیکی افزایشی و غیر افزایشی را موجب شود و نهایتاً موجب افزایش دستاورد ژنتیکی و کاهش زمان بین انتخاب و کشت تجاری نهال‌ها گردد. در شرایط کشور ایران و با اتکاء به فعالیت‌های تحقیقاتی انجامشده، ادامه مطالعه تنوع ژنتیکی صنوبرهای ایران به‌منظور ارزیابی تغییرات ژنتیکی و تعیین مؤلفه‌های ژنتیک جمعیت ضرورت دارد تا بتوان با توجه به نتایج حاصله استراتژی‌های اصلاحی آینده، به‌ویژه انتخاب جمعیت‌ها و والدین برای انجام تلاقی‌ها را ترسیم نمود. چرخه‌های اصلاحی به‌وسیله انتخاب والدین برای نسل‌های آینده بر مبنای آزمون نتاج هر نسل برتر کامل می‌گردد.

با توجه به اهمیت صنوبرها، تحقیق در خصوص کاهش اثر تنش‌های زیستی (آفات) و غیر زیستی (گرما، یخبندان، خشکی و شوری) بسیار ضرورت دارد. کلن‌های*P. deltoids* نیاز آبی بالایی دارند، این درحالی است که صنوبرهای

P. euramericana و *P. nigra* این شرایط را بهتر تحمل کرده و از رویش و مقاومت به آفات بیش‌تری برخوردار می‌باشند. از طرفی گونه‌های *P. deltoides* از عملکرد بالای تولید چوب برخوردارند، ولیکن گونه‌های *P. nigra* بومی ایران بوده که نسبت به تنش‌های محیطی متحمل هستند و عملکرد و تولید چوب کم‌تری نسبت به گونه‌های *P. deltoides* دارند (Ghasemi and Modir Rahmati, 2003). افزایش میزان رشد و مقاومت به بیماری لکه‌برگی Marssonina و تنوع ژنتیکی در صفات رشد، اکوفیزیولوژیک و مورفولوژیک در هیبرید *P. deltoides* پایه ماده و *P. nigra* پایه نر نیز به‌وجود می‌آید (Toplu, 2005). بنابراین تلاقی بین این دو گونه، زمینه مناسب و جدیدی برای اصلاح گونه‌ها و کلن‌های مربوط به آن‌ها ایجاد می‌کند. با توجه به این‌که گونه دلتوئیدس در مقابل کم‌آبی و خشکی مقاومت نداشته و در چنین شرایطی رشد درختان متوقف شده و متعاقب آن پژمردگی و ریزش برگ‌ها آغاز می‌گردد و در نهایت ضعف فیزیولوژیک درختان، کانون‌های مناسبی را برای فعالیت انواع بیماری‌ها و آفات چوبخوار، فراهم می‌سازد که در صورت تداوم شرایط کم‌آبی یا خشکی مرگ درختان قطعی خواهد بود (Ghasemi and Modir Rahmati, 2003). ضرورت ارزیابی و معرفی پایه‌های برتر صنوبر سازگار با شرایط اقلیمی نیمه‌خشک از طریق دورگ‌گیری امکان‌پذیر است. دورگ‌گیری بین‌گونه‌ای *P. nigra* و *P. deltoides* سبب ایجاد ژنوتیپ‌های دورگ جدید با تولید چوب بیش‌تر می‌شود، که مانع از دست‌دادن تنوع ژنتیکی به‌دلیل تکثیر غیرجنسی می‌شود. با توجه به این‌که از کلن‌های تبریزی بومی‌شده ایران در پروژه استفاده شده است، این امر برای آینده تحقیقاتی کشور حائز اهمیت بسیار خواهد بود. درحالی‌که هیبرید قادر است در مناطق نیمه‌خشک و خشک نیز قابلیت رویش داشته باشد. دورگ‌های درون‌گونه‌ای میان درختان مناطق مختلف منجر به ایجاد نتایج متفاوتی نسبت به والدین (توان چوب بالا و تنه با کیفیت مناسب) که گاهی حتی برتر از والدین (در صورت بروز پدیده هتروزیس) نیز بوده که این امر امکان گزینش پایه‌های برتر را از میان نتاج حاصل از تلاقی‌های درون‌گونه‌ای میسر می‌نماید. با هیبریداسیون درون‌گونه‌ای تنوع ژنتیکی هتروزیگوتی بیش‌تر می‌شود. هیبرید بین *P. nigra* با گونه *P. deltoides*، سازگاری به شرایط مختلف خاک و اقلیم، قابلیت بالای ریشه‌زایی، مقاومت بالا به باکتری شانکر ایجادشده توسط *Xanthomonas populi* و مقاومت به ویروس‌های *Marssonina brunnea* و موزائیک را خواهند داشت (Zhu *et al*., 2012). استفاده از توانمندی ارقام پرمحصول معرفی‌شده برای تولید دورگ‌های جدید، تجمیع صفات مطلوب دو گونه *P. nigra* و *P. deltoides* از طریق گرده‌افشانی مصنوعی با روش کشت کپسول‌های رسیده و سپس ارزیابی صفات مورفولوژیک و آناتومیک نهال‌های دورگ بین و درون‌گونه‌ای *P. nigra* و *P. deltoides* پس از دو سال به‌منظور معرفی هیبریدهای برتر از لحاظ عملکرد تولید و انجام برنامه‌های اصلاح‌نژادی و آزمایش‌های منطقه‌ای در آینده انجام شد.

مواد و روش‌ها

برای دورگ‌گیری از پایه‌های سیلندریک نه ساله درختان صنوبر به‌عنوان پایه مادری ا ستفاده شد. پایه‌های نر و ماده کلن های برتر صنوبر تبریزی و دلتوئیدس در اراضی مجتمع تحقیقاتی البرز در جنوب شهر کرج در عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۴ دقیقه شرقی در سال ۱۳۸۸ کاشته شده بودند.

در زمستان سال ۱۳۹۷ جوانه‌های حامل گل از شاخه‌های گل‌دار پایه ماده از کلن‌های *P. nigra* Marquette،62/154 *P. deltoides*، *P.n.42/51* و *P.d.69/55* به‌طول حدود ۶۰ الی ۱۰۰ سانتی‌متر از شاخه‌های انتهایی درخت جدا و بلافاصله شاخه‌های جمع‌آوری‌شده برچسب زده شد و در گلدان‌های پلاستیکی بزرگ (۲۵ سانتی‌متر قطر و ۳۰ سانتی‌متر ارتفاع) حاوی مخلوط خاک، ماسه و کود دامی پوسیده کاشته شدند و به‌منظور جلوگیری از آلودگی گل‌ها با دانه‌های گرده درختان اطراف، قبل از عمل گرده‌افشانی به گلخانه ایزوله مجهز به سیستم پا گرمی با پوشاندن سطح و اطراف تمامی گلدان‌ها با کود دامی شدند، که خاک گلدان در محیط ۱۵ درجه و شاخه در محیط سرد طبیعی نگهداری گردید. به‌منظور تسهیل در ریشه‌دارشدن شاخه‌های گل‌دار اطراف خاک گلدان به‌وسیله عایق حرارتی مانند پلاستیک پوشانده شده و شاخه‌ها به‌دلیل جلوگیری از بازشدن گل‌ها در هوای محیط (کم‌تر از ۱۰ درجه سلسیوس) قرار گرفتند و پس از مدت یک‌ماه همزمان با بازشدن گل‌های ماده، شاخه نیز ریشه‌دار شد. برای تهیه دانه گرده از پایه درخت نر هر یک

از گونه‌های نیگرا (*P. nigra betulifolia* 17/13) و دلتوئیدس (*P. deltoides* Samsun و *P. deltoides* 92/258)، دو هفته قبل از بازشدن جوانه‌های حامل گل، تعداد کافی از شاخه‌های گل‌دار از شاخه درخت جدا و در داخل ظرف آب قرار داده شده و در گلخانه در دمای حداقل ۱۶ درجه سلسیوس به‌طور جداگانه و در شرایط ایزوله نگهداری شدند. با بازشدن شاتون‌های گل نر، گرده‌ها جمع‌آوری و تا زمان گرده‌افشانی در یخچال داخل ظروف جاذب رطوبت نگهداری شدند. تمامی شاخه‌های گرفته‌شده از پایه‌های ماده *P.n.42/51* و *P.d.69/55* دارای جوانه رویشی بوده و تبدیل به برگ شدند.

برای انجام گرده‌افشانی مصنوعی جوانه‌های حامل شاتون گل ماده روی شاخه‌ها توسط کیسه‌های شفاف کاغذی کاملاً ایزوله شده و هر یک از کلن‌ها در اتاقک مجزا در گلخانه قرار گرفتند. وقتی که انتهای خامه گل‌های ماده در شاتون‌ها دارای چسبندگی می‌شوند، زمان آمادگی آن‌ها برای گرده افشانی است. این عمل به‌وسیله قلموی آغشته به گرده طی سه روز متوالی با دو بار تکرار در هر روز و به‌صورت گرد و غبار و با دقت انجام گرفت، به‌طوری‌که سطح شاتون به‌طور کامل از گرده پوشانده شد. برای تشخیص زمان رشد جنین‌ها و کپسول‌ها و در نتیجه زمان مناسب برداشت آن‌ها برای کشت، هر هفته چندین مرتبه شاتون‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. وقتی کپسول‌ها به رشد مناسب خود رسیدند که جنین از بلوغ کافی برخوردار ولی تبدیل به بذر رسیده نشده، رشته‌های ابریشمی انتهای بذر به راحتی از هم جدا می‌گردیدند، ولیکن قبل از ترک برداشتن برچه‌های کپسول بود. زمانی که بیش‌تر کپسول‌ها دارای شرایط مناسب بود، کپسول‌ها برداشت شدند. همزمان شاتون از پایه‌های مادری صنوبر حاصل از گرده‌افشانی آزاد موجود در کلکسیون نیز برداشت شد. پس از برداشت شاتون‌ها، در آزمایشگاه تعداد و قطر کپسول‌های هر شاتون و ارتفاع شاتون در روی شاخه‌ها برای هر ترکیب دورگ و آزادگرده‌افشان شمارش و یادداشت‌برداری شد. بهترین شاتون‌های حاوی بهترین کپسول‌ها برای کشت انتخاب شدند.

کپسول‌های دورگ حاصل از تلاقی‌های (*P. nigra* *P.* ،62/154 x *P. nigra betulifolia* 17/13 *P.* ،*deltoides* Marquette x *P. deltoides* Samsun *P.* ،*nigra* 62/154 x *P. deltoides* 92/258 *deltoides* Marquette x *P. nigra betulifolia* 17/13) و آزادگرده افشان (*P. nigra* 62/154 و *P. deltoides* Marquette) در شرایط محیط کشتMS ۱/۲ فاقد هر نوع مواد تنظیم‌کننده رشد و حاوی سه درصد ساکارز و با اسیدیته ۵/۷ سترون‌شده، مورد استفاده قرار گرفت. قبل از انتقال کپسول‌ها به محیط کشت، عملیات شستشوی تمامی شاتون‌ها به‌مدت ۱ الی ۲ ساعت با آب و مایع ظرفشویی و سترون‌سازی آن‌ها با قراردادن در الکل ۷۰ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و محلول هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۱۰ دقیقه استفاده گردید. سه بار شستشو با آب مقطر سترون به‌مدت ۱۰ دقیقه در زیر هود لامینار ایرفلو انجام گرفت. کپسول‌ها به‌صورت شکافته کشت شده (ایجاد دو شکاف طولی بر روی کپسول‌ها) و در اتاق رشد با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و شدت نور ۵۰۰۰-۴۵۰۰ لوکس و دمای ۲±۲۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در هر شیشه ۶ عدد کپسول و در ۱۰ تکرار برای هر تیمار کشت گردید. پس از کشت، تمامی شیشه‌ها هر ۳-۲ روز یک‌بار مورد بازبینی و بررسی قرار گرفتند تا اگر آلودگی وجود داشت بلافاصله شیشه‌ها خارج شوند.

گیاهچه‌های تولیدشده در اندازه بلندتر از ۱ تا ۲ سانتی‌متری و با ریشه مناسب به آرامی طوری که به ریشه‌ها و ساقه آن‌ها آسیبی وارد نشود از محیط کشت خارج شده و آگار آن‌ها شسته شدند و به سینی‌های کشت با مخلوطی از خاک سبک پیت‌ماس، پرلیت و ماسه به اتاق رشد (انکوباتور) منتقل شدند. برای هر تکرار تیمار، آلودگی تعداد گیاهچه‌های داخل شیشه، تعداد گیاهچه‌های منتقل شده به سینی‌های کشت و ارتفاع گیاهچه‌های درون شیشه یادداشت شد و درصد گیاهچه‌های انتقالی به جی‌فی‌پات بر اساس معادله یک محاسبه شد.

(رابطه ۱) ۱۰۰× کل گیاهچه‌ها / گیاهچه‌های انتقالی =درصد گیاهچه‌های انتقالی به جی‌فی‌پات

سازگاری تدریجی در شرایط محیط گلخانه در گلدان‌های حاوی مخلوط خاک سبک مزرعه، ماسه و پیت‌ماس انجام گرفت و سپس نهال‌ها به گلدان‌های بزرگ انتقال یافتند و به‌طور منظم عملیات آبیاری آن‌ها انجام گرفت. نهال‌ها بر اساس صفات کمی نهال‌های دورگ مانند ارتفاع، قطر یقه، زاویه شاخه تنه اصلی و صفات تعداد روزنه و طول و عرض روزنه برگ و طول دمبرگ و سطح برگ مورد ارزیابی قرار گرفتند. طول دمبرگ و سطح برگ با

دستگاه سطح‌سنج برگ مدلGate House AOK 4cht، وزن خشک برگ پس از قراردادن برگ‌ها در آون و در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ ساعت و توزین آن با ترازوی دیجیتال تا دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سطح ویژه برگ نیز بر اساس معادله دو برای هر تکرار محاسبه شد.

$$SLA=LA/W \quad \text{(رابطه ۲)}$$

که در آن SLA، سطح ویژه برگ (سانتی‌متر مربع بر گرم) و LA، سطح برگ (سانتی‌متر مربع) و W، وزن خشک برگ (گرم) می‌باشند.

صفات آناتومیک برگ نیز بر اساس سه تکرار در سطح فوقانی و تحتانی برگ با میکروسکوپ نوری و بزرگنمایی ۲۰x (برای شمارش تعداد روزنه) و ۴۰x (برای اندازه‌گیری طول و عرض روزنه) اندازه‌گیری شدند. تعداد روزنه‌ها پس از شمارش بر حسب تعداد در میلی‌متر مربع محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گرفت. ابتدا شرط توزیع نرمال‌بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون انجام شد. برای تعیین تفاوت آماری داده‌های صفات مورد مطالعه شش نوع تلاقی از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین صفات در صورت همگنی واریانس‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس بین گیاهچه‌های انواع مختلف تلاقی‌ها با شش تیمار، اختلاف معنی‌دار آماری در سطح ۰/۰۵ را در مشخصه ارتفاع شاتون نشان می‌دهد و در صفات قطر کپسول و ارتفاع گیاهچه اختلاف معنی‌دار آماری وجود ندارد. کلن *P. deltoides* Marquette در تلاقی آزادگرده-افشان دارای مقادیر بیش‌تر در صفات ارتفاع شاتون، قطر کپسول و وزن ۱۰۰ عدد کپسول، هیبرید *P. nigra* 17/13 *P. nigra betulifolia* x 62/154 دارای مقادیر بیش‌تر در صفات تعداد کپسول‌ها و تعداد گیاهچه‌های تولیدشده و هیبرید *P. nigra* 62/154 x *P. deltoides* 92/258 دارای مقادیر بیش‌تر در صفت ارتفاع گیاهچه علی‌رغم عدم اختلاف معنی‌دار آماری می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس (F) صفات مربوط به شاتون، کپسول و گیاهچه‌های تولیدی تحت تلاقی‌های دورگ و آزادگرده‌افشان

Table 1. Analysis of variance (F) of traits related to catkins, capsule and plantlets produced in hybrid and open pollination crosses

انواع تلاقی‌ها Types of crosses	ارتفاع شاتون (سانتی‌متر) Catkins height (cm)	قطر کپسول (میلی‌متر) Capsule diameter (mm)	تعداد کپسول‌ها Number of capsules	وزن ۱۰۰ عدد کپسول (گرم) Weight of 100 capsules (gr)	تعداد گیاهچه‌های تولید شده Number of plantlets produced	ارتفاع گیاهچه (سانتی‌متر) Plantlets height (cm)
F test	4.46*	0.076ns	-	-	-	2.52ns
P. nigra 62/154 x *P. nigra betulifolia* 17/13 (PN♀ x PB♂)	6.52c	3.94	156	5.38	107	2.46
P. deltoides Marquette x *P. deltoides* Samsun (PD♀ x PS♂)	9.13ab	3.99	49	5.13	29	2.43
P. nigra 62/154 x *P. deltoides* 92/258 (PN♀ x P92♂)	7.82bc	3.96	79	5.43	73	2.58
P. deltoides Marquette x *P. nigra betulifolia* 17/13 (PD♀ x PB♂)	8.16bc	4.05	24	5.88	8	3.27
P. nigra 62/154 (PN♀)	9.83ab	3.98	85	6.13	65	1.98
P. deltoides Marquette (PD♀)	11.1a	4.24	47	6.76	31	2.33

*: معرف تفاوت معنی‌دار بین میانگین صفت ارتفاع شاتون در سطح احتمال ۰/۰۵ و ns : نشان از عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌هاست.

علت عدم وجود آماره F برای برخی صفات، شمارش کل آن صفت در هر تلاقی است.

حروف مختلف در ستون مربوط به هر مشخصه مبین معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ است و حروف مشابه عدم تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها را نشان می‌دهد.

اختلاف معنی‌دار آماری در صفات ارتفاع ساقه، زاویه شاخه، طول دمبرگ، سطح برگ، سطح ویژه برگ، تعداد روزنه سطح فوقانی و عرض روزنه سطح تحتانی در تجزیه واریانس انواع تلاقی‌ها وجود دارد. بیش‌ترین ارتفاع ساقه در تلاقی‌های PD♀xPS♂ و PD♀xPB♂، تعداد روزنه سطح فوقانی در تلاقی آزادگرده‌افشان (PN♀) و عرض روزنه

سطح تحتانی در تلاقی ♂PB×♀PN وجود دارد (جدول ۲). بیش‌ترین زاویه شاخه، سطح برگ و سطح ویژه برگ در تلاقی آزادگرده‌افشان (♀PD) مشاهده شده است. در تلاقی‌های ♂PS×♀PD، ♂P92×♀PN، ♂PB×♀PD و ♀PD آزادگرده‌افشان، بیش‌ترین میزان ارتفاع ساقه به‌دست آمد که خود نشان می‌دهد که کلن‌هایی که حداقل یک والد آن‌ها *P. deltoides* است رشد بیش‌تری نسبت به سایر تلاقی‌ها نشان داده‌اند و برتری آن‌ها را می‌رساند.

جدول ۲- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در انواع تلاقی‌ها

Table 2. Analysis of variance and comparison of the mean of studied traits in types of crosses

انواع تلاقی‌ها Types of crosses / صفات مورد مطالعه Studied traits	F	PN♀xPB♂	PD♀xPS♂	PN♀xP92♂	PD♀xPB♂	PD♀ آزادگرده‌افشان Open pollination	PD♀ آزادگرده‌افشان Open pollination
ارتفاع ساقه Stem height	3.94*	104bc	128a	114ab	126.83a	112.67ab	112.67ab
قطر یقه Collar diameter	1.61ns	12.52	13.9	12.4	15.26	13.32	13.32
زاویه شاخه Angle of branch	4.9**	22.67b	28.5b	32.5b	29.67b	43.33a	43.33a
طول دمبرگ Petiole length	2.41*	2.08a	1.88ab	1.9ab	1.25b	1.97a	1.97a
سطح برگ Leaf area	3.89**	16.31ab	17.87a	13.34a-c	10.16c	18.05a	18.05a
سطح ویژه برگ Specific leaf area	5.85**	54.77d	63.66b-d	57.39cd	76.02bc	98.88a	98.88a
تعداد روزنه سطح فوقانی Adaxial stomatal density	2.45*	34.94b	36.25b	36.5b	31.78b	40.33ab	40.33ab
طول روزنه سطح فوقانی Adaxial stomatal length	1.31ns	24.72	24.67	22.93	22.5	23.34	23.34
عرض روزنه سطح فوقانی Adaxial stomatal width	2.23ns	17.27	15.55	16.07	14.03	16.39	16.39
تعداد روزنه سطح تحتانی Abaxial stomatal density	2.17ns	63.61	61.92	65.06	52.39	65.56	65.56
طول روزنه سطح تحتانی Abaxial stomatal length	0.27ns	23.77	24.03	23.37	23.3	23.7	23.7
عرض روزنه سطح تحتانی Abaxial stomatal width	3.23**	17.52a	16.24ab	15.14b	15.05b	15b	15b

*و **: معرف تفاوت معنی‌دار بین میانگین صفات به‌ترتیب در سطوح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و ns: نشان از عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌هاست.
حروف مختلف در ستون مربوط به هر مشخصه مبین معنی‌داربودن و حروف مشابه عدم تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌ها را نشان می‌دهد.

بحث

تلاقی بین و درون‌گونه‌ای *P. nigra* و *P. deltoides* در پروژه حاضر انجام گرفت و تعدادی بذور دورگ تشکیل شد. تحقیق حاضر بیش‌ترین میزان ارتفاع شاتون، تعداد و وزن کپسول را در آزادگرده‌افشان نشان داد. برتری تلاقی در شاتون‌های آزادگرده‌افشان می‌تواند، به‌دلیل هتروزیگوسیتی و بیش‌تربودن طول دوره گرده‌افشانی و تعداد بیش‌تر دانه‌های گرده کاملاً رسیده‌ای که در اختیار مادگی قرار می‌گیرد، باشد و کم‌ترین آسیبی به مادگی برای انجام تلاقی

بیش‌ترین تعداد کپسول و تعداد گیاهچه‌های تولیدشده در تلاقی درون‌گونه‌ای *P. n.* 62/154 x *P.n.betulifolia* 17/13 نیز نشان می‌دهد که سازگاری بیش‌تر در تلاقی درون‌گونه‌ای وجود دارد.

نیز نمی‌رسد، در صورتی‌که در تلاقی‌های مصنوعی زمان گرده‌افشانی کم‌تر و گرده‌ها محدود هستند. بذرهای آزادگرده‌افشان، بذرهایی هستند که به‌طریق تصادفی و طبیعی به کمک باد و حشرات گرده‌افشانی شده‌اند و در نتیجه منجر به گیاهانی می‌شوند که به‌صورت طبیعی دارای تنوع هستند و هیچ محدودیتی در جریان گرده بین گیاهان وجود ندارد. بیش‌تربودن درصد گیاهچه‌های انتقالی به جی‌فی‌پات در کپسول‌های شکافته شده، می‌تواند به‌دلیل جوانه‌زنی زودتر و راحت‌تر و دسترسی سریع‌تر به عناصر محیط کشت و سپس رشد ارتفاعی گیاهچه باشد.

از صفات مورفولوژیک می‌توان در تمایز بین گونه‌ها و رده‌بندی سیستماتیک استفاده نمود (Assadi *et al.*, 2004). برخی صفات برگ مرتبط با تولید است و در انتخاب درختان با تولید زیاد می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. در

تحقیق حاضر تحت تلاقی‌های مختلف صنوبر، برخی صفات مرتبط با برگ از جمله ابعاد و سطح برگ، طول دمبرگ، وزن خشک، تراکم و ابعاد روزنه در دو سطح فوقانی و تحتانی اندازه‌گیری شدند. میزان رشد نهال‌ها در سنین اولیه یک ویژگی کلیدی برای عملکرد و سازگاری گونه‌ها است و می تواند یک عامل مهم در موفقیت یک گونه تا سنین بلوغ باشد. در تلاقی‌های ♀PD xPS♂، ♀PN xP92♂، ♀PD xPB♂ و ♀PD آزادگرده‌افشان، بیش‌ترین میزان ارتفاع ساقه به‌دست آمد که خود نشان می‌دهد کلن‌هایی که حداقل یک والد آن‌ها دلتوئیدس است رشد بیش‌تری نسبت به سایر تلاقی‌ها نشان داده‌اند و می‌توان بیان کرد این صفت تا حدودی یک عامل متغیر ژنتیکی است. ارتباط رویش با صفات کمی برگ مانند سطح برگ و سطح ویژه برگ در پژوهش‌های مختلف نشان داده شده است. در این زمینه دام و همکاران (Dim *et al.,* 1999) به‌منظور مطالعه صفات فنوتیپی، ۱۲ توده صنوبر از منابع ژنتیکی در رویشگاه‌های مختلف کشور رومانی را با استفاده از ۲۲ صفت که شامل شاخص‌های کمی و کیفی بودند، از نظر ساختاری تقسیم‌بندی کردند. علی‌محمدی و همکاران (Alimohammadi *et al.,* 2009) از صفات مورفولوژیک برگ برای تمایز توده‌های *P. nigra* در استان‌های کرمانشاه و زنجان و علی‌محمدی و همکاران (Alimohammadi *et al.,* 2015) از صفات مورفولوژیک برگ برای انتخاب غیرمستقیم پایه‌های صنوبر با رویش بالا استفاده کردند. فرآیند انتخاب افراد و پایه‌های مناسب نباید به‌صورت مستقیم و بر اساس صفات کمی ارتفاع و قطر باشد زیرا صفات مزبور در شرایط رویشگاهی سخت، فرصت بروز نمی‌یابند. همچنین بسیاری از ارقام موفق صنوبر در برخی از شرایط رویشگاهی، امکان رشد سریع را نخواهند یافت. بنابراین انتخاب غیرمستقیم از طریق سایر صفات همبسته با ویژگی‌های قطر و ارتفاع به‌منظور ارزیابی پتانسیل عملکرد آن ارقام یک راه حل مناسب است.

در این زمینه، روزنه‌ها ساختارهای اپیدرمی تخصص یافته‌ای هستند و امروزه مطالعه صفات ریختی روزنه به‌طور فزاینده‌ای بین متخصصان علوم گیاهی برای بررسی تنوع صفات گونه‌ها رایج شده است. تفاوت زیادی از نظر تعداد و ابعاد روزنه در کلن‌های مورد مطالعه مشاهده شد که از نظر آماری این اختلاف‌ها معنی‌دار بود. براساس گزارش پیرسی و همکاران (Pearce *et al.,* 2005)، این اختلاف در درون و بین گونه‌های مختلف صنوبر به وضوح قابل مشاهده است و ایشان تعداد روزنه سطح فوقانی و سطح تحتانی را به‌ترتیب ۱۸۷ و ۱۹۴ برای *P. deltoides* گزارش کردند. تراکم روزنه در برگ یکی از مواردی است که در میزان کارآیی مصرف و تعرق آب به‌شدت دخیل است (Nilson and Assmann, 2007) و تراکم بیش‌تر روزنه ممکن است میزان مصرف آب را نیز افزایش دهد. تفاوت بین نتاج در سنین نهالی به‌طور کامل آشکار نمی‌شود، از این‌رو انتظار می‌رود که در سال‌های آینده، اختلاف بین دورگ‌ها از این مقدار هم بیش‌تر شود. تراکم روزنه می‌تواند در برگ‌ها، گیاهان و افراد یک گونه متفاوت باشد و می‌تواند با توجه به عوامل محیطی مانند نور، رطوبت هوا، در دسترس‌بودن آب و غلظت CO_2 در اتمسفر تفاوت داشته باشد و در ارتباط با تنظیم تبادلات گازی است و برگ‌هایی که در معرض نور خورشید هستند، تراکم روزنه‌ای بالاتری دارند (Givnish, 1988). اغلب رابطه‌ای معکوس بین تراکم روزنه و اندازه روزنه وجود دارد. به‌طور معمول گیاهان برای تحمل و سازگاری به شرایط موجود، میزان تراکم روزنه خود را افزایش می‌دهند و صفات مربوط به روزنه تأثیرپذیری زیادی از شرایط محیطی را نشان می‌دهند (Kordalivand *et al.,* 2015). گروه‌هایی که ویژگی‌های روزنه‌ای متشابه دارند، از لحاظ تنش‌های زیستی و پراکنش شرایط مشابه‌ای دارند. صفات مربوط به روزنه به‌عنوان معیاری برای تمایز کلن‌ها در جنس صنوبر استفاده می‌شود و تنوع روزنه‌ها به‌عنوان یک متغیر ژنتیکی در نظر گرفته می‌شود. *P. nigra* به‌عنوان یک گونه Amphistomatous (تعداد روزنه بیش‌تر در زیر برگ) می‌باشد (Al Afas *et al.,* 2007). در تحقیق کرتان و همکاران (Čortan *et al.,* 2017)، میانگین تراکم روزنه در سطح تحتانی برگ (۱۶۱/۴۶ در میلی‌متر مربع) بیش‌تر از سطح فوقانی برگ (۴۵/۷۹ در میلی‌متر مربع) بود که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. در پروژه حاضر، میانگین تراکم روزنه در سطح تحتانی برگ (۹۷/۳۳-۴۱/۳۳ در میلی‌متر مربع) بیش‌تر از سطح فوقانی برگ (۸۱/۳۳-۲۸ در میلی‌متر مربع) است. امام (Emam, 2001) تعداد روزنه‌ها را در سطح تحتانی برگ سفید پلت بیش‌تر از سطح فوقانی گزارش کردند. نتایج بررسی کلن‌های مختلف صنوبر در نهالستان توسط ارلوویک و همکاران (Orlović *et al.,* 1998) نشان داد که تراکم روزنه در سطح فوقانی برگ به‌ترتیب در کلن‌های *P. nigra* و *P. deltoides* به‌میزان

۶۹ و ۱۶۴ در میلی‌متر مربع و تراکم روزنه در سطح تحتانی برگ به‌ترتیب در کلن‌های *P. nigra* و *P. deltoides* به میزان ۱۸۴ و ۲۰۸ در میلی‌متر مربع می‌باشد که مربوط به واکنش‌های مختلف کلن‌ها به تغییرات محیطی، پایداری فنوتیپی کم و سازگاری بالای کلن‌های صنوبر است. به‌طور کلی، کلن‌های صنوبر *P. deltoides* و برخی کلن‌های *P. euramericana* دارای تراکم روزنه‌ای بالا در هر دو سطح برگ هستند، درحالی‌که کلن‌های *P. nigra* از کم‌ترین تراکم روزنه‌ای برخوردارند. این الگوی پراکنش روزنه‌ای در بیشتر موارد وجود دارد و تراکم روزنه‌ای به‌طور قابل توجهی در سطح تحتانی برگ بیش‌تر است که ممکن است سبب جلوگیری از اتلاف آب شود زیرا سطح زیرین کم‌تر در معرض گرم‌شدن قرار دارد (Casson and Gray, 2008). قبلاً در برخی صنوبرهای هیبرید رفتار متفاوتی در صفات روزنه در طی فصل رشد گزارش شده بود (Reich, 1984). در تحقیق آل آفاس و همکاران (Al Afas *et al.,* 2007)، هیبریدهای صنوبر از تلاقی بین و درون دو بخش Aigeiros × Tacamahaca، مقادیر متوسطی از تراکم روزنه‌ای، طول و نسبت تراکم روزنه‌ای فوقانی به تحتانی را در مقایسه با والدین‌شان نشان دادند و این متغیرها به‌شدت تحت عامل ژنتیکی می‌باشند.

ویژگی‌های ریخت‌شناسی برگ توسط لوپیز و همکاران (Lopez *et al.,* 2004) استفاده شد تا تنوع موجود در *P. tremula* ارزیابی شود. مارون و همکاران (Marron *et al.,* 2007) از ویژگی‌های مختلف برگ صنوبرها در گزینش غیرمستقیم بهره گرفتند و صفاتی مانند شاخص سطح برگ، طول دمبرگ، وزن خشک و شاخص سطح ویژه برگ را مورد مطالعه قرار دادند. ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریز ریخت‌شناسی برگ‌ها مانند ابعاد برگ و حتی تعداد و ابعاد روزنه در برگ نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان فتوسنتز گیاه دارند. دورگ‌های مورد مطالعه از نظر بیش‌تر صفات تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. در مطالعات پژوهشگران دیگر نیز این تفاوت‌ها در میان گونه‌ها و کلن‌های مختلف صنوبر گزارش شده است (Assadi *et al.,* 2004; Chauhan *et al.,* 2004; Marron *et al.,* 2007). افزایش طول و عرض برگ در دورگ‌ها به افزایش سطح برگ منجر می‌شود که به‌دنبال آن می‌تواند فتوسنتز را در گیاه افزایش دهد.

تفاوت نتاج مورد مطالعه از نظر زاویه شاخه با تنه اصلی و وضعیت شاخه‌بندی نیز قابل توجه بود. در تلاقی ♀PD آزادگرده‌افشان، بیش‌ترین میزان زاویه شاخه به‌دست آمد که دلالت بر فرم تاج باز آن است و می‌توان بیان کرد این صفت نیز تا حدودی یک عامل متغیر ژنتیکی است. براساس تجربیات پژوهشگران دیگر، وضعیت شاخه‌بندی در درختان تند رشد در سال‌های اولیه رشد آشکار می‌شود. هر چند تعداد شاخه‌ها و شاخه‌بندی در پنج سال اول رشد به‌طور دقیق‌تر قابل تشخیص خواهد بود. تعداد و زاویه شاخه‌های درختان تند رشد با تنه اصلی از جمله صفات مهمی هستند که کیفیت چوب این گونه‌ها را تعیین می‌کنند. در تحقیق حاضر، دامنه زاویه شاخه‌ها بین ۲۰ تا ۵۳ درجه متغیر بود. زاویه شاخه با تنه اصلی که در پایان سال اول رشد کاملاً قابل تشخیص است، شکل باز یا بسته‌بودن تاج را نشان می‌دهد و از صفات مهم کیفی درختان برای استفاده در صنایع چوب می‌باشند. درختان پرشاخه و با شاخه‌های باز معمولاً از تقارن تاج و شکل تنه کیفی کم‌تری نسبت به درختان با تنه کم‌شاخه و شاخه‌بندی بسته دارند.

در تحقیق حاضر در تولید نتاج، تلاقی بین والدین پدری و مادری با ویژگی‌های مورفولوژیک متفاوت انجام شد. به‌منظور انجام تلاقی مناسب و تولید نتاج برتر، باید والدین از نظر ویژگی‌های فنوتیپی بیش‌ترین فاصله را داشته باشند (Shariat *et al.,* 2001). طاوسی‌راد و همکاران (Tavousi Rad *et al.,* 2017) با انجام تلاقی‌های متعدد بین پایه‌های پده و کبوده با کشت جنین نارس و تولید نهال دورگ، با اندازه‌گیری صفاتی مانند تعداد، طول و زاویه شاخه‌ها، ابعاد برگ، تراکم و اندازه روزنه، قطر یقه و ارتفاع درختان تفاوت بین دورگ‌ها با والدین را ارزیابی کردند و نتایج آن‌ها نشان داد که دامنه صفات در نتاج به‌دست آمده بسیار گسترده بود که این تنوع می‌تواند در انتخاب ژنوتیپ‌های برتر و معرفی کلن‌های جدید صنوبر استفاده شود. بارزترین اختلاف‌ها در ویژگی‌های روزنه بود که تفاوت زیادی بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. ابعاد و تراکم روزنه‌ها و طول دمبرگ از مشخصه‌های تغییرپذیر و تحت تأثیر عامل محیطی هستند، درحالی‌که صفات طول و پهنای برگ و سطح برگ تحت تأثیر عامل‌های ژنتیکی هستند (Calagari *et al.,* 2017). علی‌محمدی و همکاران (Alimohamadi *et al.,* 2015) و کریمر و همکاران (Kremer *et al.,* 2002) نیز عنوان کرده‌اند که اندازه برگ تحت تأثیر فاکتورهای محیطی است.

اسدی و همکاران (Assadi *et al.,* 2004) به‌منظور تمایز کلن‌های مختلف گونه‌های *P. euphratica*، *P. deltoides*، *P. alba* و *P. nigra* از ۲۰ صفت مورفولوژیک مربوط به برگ، شاخه و ریشه استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که صفات سطح برگ، تعداد برگ، تعداد شاخه، تعداد ریشه و زنده‌مانی متأثر از عوامل ژنتیکی بوده و در برنامه‌های اصلاحی باید بیش‌تر مورد توجه قرار گیرند. رائی و همکاران (Rae *et al.,* 2004) در بررسی ارتباط بین صفات مورفولوژیک هیبریدهای صنوبر با زی‌توده نشان دادند که ارتفاع، قطر یقه و تعداد شاخه از مؤثرترین صفات بر زی‌توده هستند و این صفات حداکثر وراثت‌پذیری و در نتیجه پتانسیل عالی برای برنامه‌های اصلاحی را دارند. برخی محققان از ویژگی‌های برگ به‌دلیل سادگی و ارزان-بودن در مطالعات تنوع ژنتیکی استفاده کرده و نسبت به سایر روش‌ها ارجح دانسته‌اند. معمولاً تغییرات سطح ویژه برگ نوعی سازگاری برای افزایش کارایی فتوسنتز تحت شرایط نور زیاد و کم می‌باشد. چین و همکاران (Chen *et al.,* 1996) افزایش سطح ویژه برگ را ناشی از بهبود ظرفیت جذب نور توسط برگ دانسته‌اند. سطح برگ شاخص تولید زی‌توده و ارزیابی تولید در شرایط مختلف محیطی می‌باشد و می‌توان گفت این صفت تا حد زیادی توسط عوامل ژنتیکی کنترل می‌شود. برخی مطالعات نشان داده‌اند که کلن‌های صنوبری که طول دمبرگ و سطح برگ بزرگ-تری دارند دارای کارایی جذب نور بیش‌تری نسبت به کلن‌های دارای طول دمبرگ و اندازه‌ی برگ کم‌تر هستند (Niinemets *et al.,* 2004). برخی ویژگی‌های نهال‌ها برای ارزیابی توان و شانس استقرار بهتر آن‌ها در عرصه می‌تواند اهمیت داشته باشد. پیشنهاد می‌شود پس از انتقال نهال‌ها به زمین اصلی و طی مراحل استقرار، سازگاری آن‌ها نیز در استان‌های مستعد بررسی شود. از پایه‌های برتر نهال‌های دورگ و والد آن‌ها قلمه تهیه و سپس نهال برای انجام آزمایشات منطقه‌ای تولید شود.

نتیجه‌گیری کلی

برتری تلاقی از نظر مشخصه‌های ارتفاع شاتون، تعداد و وزن کپسول در شاتون‌های آزادگرده‌افشان است و سازگاری بیش‌تر گیاهچه‌های تولیدی نیز در تلاقی درون‌گونه‌ای *P. n.betulifolia* 17/13 x *P. n.* 62/154 وجود دارد. به‌طور کلی نهال‌های دورگی توسط تلاقی‌های مختلف ایجاد شده است که بسیار ارزشمند می‌باشد. صفت ارتفاع ساقه تا حدودی یک عامل متغیر ژنتیکی است به‌دلیل این‌که رشد بیش‌تری در کلن‌هایی که حداقل یک والد آن‌ها *P. deltoides* بود، مشاهده شد. گونه *P. deltoides* به‌دلیل دارابودن طول دمبرگ و سطح برگ بزرگ‌تر و زاویه شاخه بیش‌تر نسبت به سایر گونه‌های دورگ، نورپسندتر است و فرم تاج گسترده‌تری را دارد. گروه‌بندی‌های متفاوتی در هر صفت ایجاد شد که نشان‌دهنده تنوع بسیار بالا در ترکیبات انواع تلاقی می‌باشد که می‌توان از این تنوع برای برنامه‌های اصلاحی در انتخاب ژنوتیپ‌های برتر و معرفی کلن‌های جدید صنوبر استفاده نمود. با توجه به این تنوع بالا می‌توان بیان کرد که این دورگ‌گیری با موفقیت انجام شده است. هیبرید حاصل از تلاقی *P. deltoides* Marquette x *P. deltoides* Samsun به‌دلیل رویش زیاد ارتفاعی و توسعه سطح برگ به‌عنوان هیبرید برتر معرفی می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از مسئولین مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تشکر و قدرانی می‌نمایند.

منابع

Al Afas, N., Marron, N. and Ceulemans, R. 2007. Variability in *Populus* leaf anatomy and morphology in relation to canopy position, biomass production and varietal taxon. Annals of Forest Science, 64(5): 521-532. **(Journal)**

Alimohamadi, A., Asadi, F. and Tabaie Aghdaei, S.R. 2015. Evaluation of growth and morphological parameters in two poplar species (*P. nigra* L. and *P. alba* L.) to tree growth reveal traits related to productivity (case study in Kermanshah, Zanjan and Esfahan provinces). Ecology of Iranian Forests, 3(5): 31-41. (In Persian)**(Journal)**

Alimohammadi, A., Asadi, F., Adeli, E., Tabaei-Aghdaei, S.R. and Mataji, A. 2009. Using morphological traits for identification of *Populus nigra* stands in Kermanshah and Zanjan provinces of Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 17(3): 369-381. (In Persian)**(Journal)**

Assadi, F., Mirzai – Nodushan, H., Modirrahmati, A.R. and Naderi - Shahab ,M.A. 2004. Identification of Poplar clones, using morphological markers. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 12(2): 267-300. (In Persian)**(Journal)**

Calagari, M., Mirzaie-Nodoushan, H., Asadi, F. and Salehi Shanjani, P. 2017. Evaluation of progenies of sexual reproduction of *Populus euphratica* provenances using leaf morphology and Isoenzyme markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 25(2): 247-258. (In Persian)**(Journal)**

Casson, S. and Gray, J.E. 2008. Influence of environmental factors on stomatal development. New Phytologist, 178(1): 9–23. **(Journal)**

Chauhan, N., Negi, M.S., Sabharwal, V., Khurana, D.K. and Lakshmikumaran, M. 2004. Screening inter-specific hybrids of *Populus* (*P. ciliate*×*maximowiczii*) using markers. Theoretical and Applied Genetics, 108(5): 951- 957. **(Journal)**

Chen, H.Y.H., Klinka, K. and Kayahara, G.J. 1996. Effects of light on growth, crown architecture, and specific leaf area for naturally established *Pinus contorta* var. *latifolia* and *Pseudotsuga meuziesii* var. *glauca* saplings. Canadian Journal of Forest Research, 26(7): 1149-1157. **(Journal)**

Čortan, D., Vilotić, D., Šijačić-Nikolić, M. and Miljković, D. 2017. Leaf stomatal traits variation within and among black poplar native populations in Serbia. Bosque, 38(2): 337-345. **(Journal)**

Covarelli, L., Beccari, G., Tosi, L. and Fabre, B. 2013. Three-year investigations on leaf rust of poplar cultivated for biomass production in Umbria, Central Italy. Biomass Bioenergy, 49: 315-322. **(Journal)**

Dim, G., Benea, V.I. and Coros, A.M. 1999. Phenotypical traits of the native poplar genetic resources. 2 th International poplar symposium, Program with abstracts, 13-17 September, Orlean, France. pp: 99. **(Conference)**

Emam, M. 2001. Comparison of anatomic characteristics between in vitro cultured plantlets and naturally grown parental plants in *Populus cuspica*. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant, Breeding and Genetic research, 6(1): 103-113. (In Persian)**(Journal)**

FAO, 1979. Internatinal Poplar Commission. Poplar and willows in wood production and land use. FAO forestry Series 10. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. **(Handbook)**

Ghasemi, R. and Modir Rahmati, A.R. 2003. Investigation on adaptability and wood production of different poplar clones (closed crown) in Karaj City. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 11(3): 359-390. (In Persian)**(Journal)**

Givnish, T.J. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. Australian Journal of Plant Physiology, 15(2): 63-92. **(Journal)**

Heinze, B. 2008. Genetic traces of cultivated hybrid poplars in the offspring of native *Populus nigra* in Austria. Preslia, 80(4): 365–374. **(Journal)**

Hemati, A. and Modir Rahmati, A.R. 1998. Poplar natural hybrids in experimental nurseries. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 1(1): 143-169. (In Persian)**(Journal)**

Kordalivand, A., Payamnoor, V., Sattarian, A. and Mohammadi, J. 2015. Different types of leaf stomata in genus *Betula L.* in Iran. Journal of Wood & Forest Science and Technology, 22(2): 55-73. (In Persian)**(Journal)**

Kremer, A., Dupouey, J.L., Deans, D., Cottrell, J., Csaikl, U., Finkeldy, R., Espinel, S., Jensen, J., kleinschmit, J., VanDam, B., Tutkova, M., Munro, R.C., Steinhoff, S. and Badeau, V. 2002. Leaf morphological differentiation between *Quercus robur* and *Quercus petraea* in stable across western European mixed Oak stands. Annals of Forest Science, 59(7): 777-787. **(Journal)**

Lopez, D.H., Sierra, U.R. and Cristobal, M.D. 2004. A comparison of isozyme and morphological markers to assess the within population variation in small populations of European aspen (*Populus tremula* L.) in Spain. Silvae Genetica, 53(5-6): 227-233. **(Journal)**

Marron, N., Dillen, S.Y. and Ceulemans, R. 2007. Evaluation of leaf traits for indirect selection of high yielding poplar hybrids. Environmental and Experimental Botany, 61(2): 103-116. **(Journal)**

Michel, M.F., VillaR, M., Point, J. and Teissier, E. 1989. Recent developments in INRA Poplar improvement programme. In: Recent developments in Poplar selection and propagation technique. Proceedings of IUFRO meetings working party, 2-6 October, Hann Munden, France. pp: 11. **(Conference)**

Mohrdiek, O. 1979. Progeny tests with Leuce poplars in Germany: crossings within and between species and backcrossings. Wiedebusch, Hamburg. **(Book)**

Niinemets, Ü., Al Afas, N., Cescatti, A., Pellis, A. and Ceulemans, R. 2004. Petiole length and biomass investment in support modify light-interception efficiency in dense poplar plantations. Tree Physiology, 24(2): 141–154. **(Journal)**

Nilson, S.E. and Assmann, S.M. 2007. The control of transpiration insights from Arabidopsis. Plant Physiology, 143(1): 19-27. **(Journal)**

Orlović, S., Guzina, V., Krstić, B. and Merkulov, L.J. 1998. Genetic variability in anatomical, physiological and growth characteristics of hybrid poplar (*Populus x euramericana* Dode (Guinier)) and eastern cottonwood (*Populus deltoides* Bartr.) clones. Silvae Genetica, 47(4): 183-190. **(Journal)**

Pearce, D.W., Millard, S., Bray, D.F. and Rood, S.B. 2005. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. Tree Physiology, 26(2): 211-218. **(Journal)**

Rae, A.M., Robinson, K.M., Street, N.R. and Taylor, G. 2004. Morphological and physiological traits influencing biomass productivity in short-rotation coppice poplar. Canadian Journal of Forest Research, 34(7): 1488–1498. **(Journal)**

Reich, P.B. 1984. Leaf stomatal density and diffusive conductance in three amphistomatous hybrid poplar cultivars. New Phytologist, 98(2): 231–239. **(Journal)**

Shariat, A., Mirzaie-Nodoushan, H., Ghamarri-Zare, A. and Sangtarash, M.H. 2001. Investigation of relationship between and within species of annual medics based on morphological characteristics. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant, Breeding and Genetic research, 7(1): 81-97. (In Persian)**(Journal)**

Tavousi Rad, F., Ghamari Zare, A., Mirzaie-Nodoushan, H. and Usefifard, M. 2017. Evaluation of poplar inter-specific progenies based on their morphologic and micromorphologic traits. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 24(4): 675-686. (In Persian)**(Journal)**

Toplu, E. 2005. Breeding and conservation of black poplar (*Populus nigra*) gene resources in Turkey. Unasylva, 221(56): 26-30. **(Journal)**

Wolf, H. and Brandt, R. 1995. Growth and quality of intra-specific aspen *Populus tremula* L. progenies. Silvae Genetica, 44(5/6): 319-325. **(Journal)**

Zhu, S., Cao, Y.Z., Jiang, C., Tan, B.Y., Wang, Z., Feng, S., Zhang, L., Su, X.H., Brejova, B., Vinar, T., Xu, M., Wang, M.X., Zhang, S.G., Huang, M.R., Wu, R. and Zhou, Y. 2012. Sequencing the genome of *Marssonina brunnea* reveals fungus-poplar co-evolution. BMC Genomics, 13: 382. **(Journal)**

Evaluation of inter and intra-specific hybridization of clones of *Populus nigra* and *P. deltoides*

Fatemeh Ahmadloo[1*], Abbas Ghamari Zare[2], Mohsen Calagari[3], Azadeh Salehi[4], Mahdiyeh Salehi Vajdeh Nazari[5]

Received: May 31, 2021 Accepted: July 28, 2021

Abstract

The aim of this study was to use the potential of productive cultivars to produce new hybrids and to evaluate the morphological and anatomical traits of hybrid seedlings between *P. nigra* and *P. deltoides*. In the present project, the male and female bases of the superior clones of *Populus nigra* and *Populus deltoides* were used, which had a high performance in terms of wood production and proper trunk quality, and were introduced to the implementation department. In winter 2018, the flowering branches of the base material with flower-bearing buds about 60–100 cm in length were collected from the end branches of the tree and planted in 20 litre plastic pots consisting of mixture of soil, sand and well-rotted cattle manure. To prepare pollen grains, a sufficient number of flowering branches were separated from the male branches of each of *P. nigra* and *P. deltoides* species and placed in a container of water and the pollen was collected by opening the male flower catkins. Pollination was achieved by lightly dusting the receptive flowers with a camel-hair brush. Catkins were collected from the branches when capsules mature and all of sterilized hybrid and open pollination capsules were cultured on Half-MS medium without hormone in the form of splitting. Produced plantlets taller than 1 to 2 cm in size were transferred to jiffypots with a mixture of sterilized perlite and peat moss and sand and kept in greenhouse and the characteristics of the percentage of contamination, height of plantlets and the number of plantlets transferred to jiffypots were recorded. The hybrid seedlings were transferred to large pots after gradual adaptation, and then they were evaluated based on quantitative traits such as height, collar diameter, branch and quantitative characteristics and anatomy of leaves after two years. The results showed that the highest catkins height, number and weight of capsules were in open pollinated cross. A total of 28 progeny were obtained from *Populus* different crossings. The highest stem height in crosses of PD♀xPS♂ (*P. deltoides* Marquette x *P. deltoides* Samsun) and PD♀xPB♂ (*P. deltoides* Marquette x *P. nigra betulifolia* 17/13), the maximum branch angle, leaf area and specific leaf area in open pollinated cross of PD♀ (*P. deltoides* Marquette) was observed.

Key words: Capsule; Culture medium; Heritability; Hybridization; *Populus*; Seedling

How to cite this article
Ahmadloo, F., Ghamari Zare, A., Calagari, M., Salehi, A. and Salehi Vajdeh Nazari, M. 2022. Evaluation of inter and intra-specific hybridization of clones of *Populus nigra* and *P. deltoides*. Iranian Journal of Seed Science and Research, 9(1): 15-26. (In Persian)**(Journal)**
DOI: 10.22124/jms.2022.6142

COPYRIGHTS
Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research
The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. fatemeh_ahmadloo@yahoo.com
2. Associate Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. ghamari-zare@rifr-ac.ir
3. Associate Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. calagari@rifr-ac.ir
4. Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. salehi.azadeh@yahoo.com
5. Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. mahdiyehsalehi1@gmail.com

*Corresponding author: fatemeh_ahmadloo@yahoo.com