

باروری و تلاقی‌های درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در جنس پسته

(*Pistacia* sp.)

یحیی دهقانی شورکی^۱

چکیده

اغلب گل‌های پسته نمی‌توانند به میوه کامل تبدیل شوند و بیشتر میوه‌ها در همان مراحل اولیه و یا تا هفته هشتم پس از تلقیح گل ریزش می‌کنند. میوه‌هایی که به مرحله بلوغ می‌رسند ممکن است دارای یکی از شکل‌های سالم خندان، سالم دهان بسته، نیم مغز، پوک و یا بد شکل باشند. در این مطالعه، پاره‌ای از مشکلات گرده افشانی، لقاح و رشد میوه در یک برنامه تلاقی درون گونه‌ای با *Pistacia vera* و بین گونه‌ای با *Pistacia atlantica* مطالعه شد. رشد و نمو لوله گرده در اندامهای گل ماده و تولید میوه در زمان برداشت محصول از معیارهای سنجش میزان موفقیت تلاقی‌ها بودند.

برای ارزیابی کیفیت گرده، از محیط کشت آگار و شکر استفاده شد و تعداد گرده‌های جوانه زده موجود در سطح کلاله و نیز تعداد لوله گرده در بافت‌های اندام ماده پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت گرده افشانی، مطالعه شدند. گل‌ها در زمان بلوغ و ۱، ۲، ۳ و ۴ روز پس از آن در دو گروه مجزا با گرده ژنوتیپ ۱۵-۱۲ و پسته آتلانتیکا گرده افشانی دستی شدند. گرده آتلانتیکا برای مدت ۳-۴ هفته در فریزر یخچال نگهداری شد تا زمان بلوغ گل‌های ماده پسته خوراکی فرا رسید ولی گرده پسته خوراکی به صورت تازه مصرف شد. گرده گلها در زمان برداشت بیشترین میزان باروری داشتند.

نمونه گل‌های تلقیح شده و شاهد در محلول کارنویز تثبیت شدند و پس از یک هفته از طریق آب دادن با سری الکل و نرم کردن آنها با سود سوز آور، با رنگ آنیلین بلو رنگ آمیزی ولوله‌های گرده در نور ماوراء بنفش مشاهده و شمارش شدند. تعدادی از گل‌های گرده افشانی شده نیز برای مطالعه اثر گرده‌های مورد استفاده بر روی میوه نشینی، تا زمان برداشت محصول حفظ شدند.

گل‌های ماده پسته در مراحل اولیه بلوغ برای گرده افشانی مناسب نیستند و نیز گل‌های پیری که از بلوغشان ۳-۴ روز گذشته باشد توان باروری کافی ندارند. گرده افشانی بین گونه‌ای در پسته اثر مطلوب ندارد و سبب می‌شود که تمام یا تعداد زیادی از گل‌های ماده پسته خوراکی یا بارور نشوند و یا در مراحل اولیه رشد جنین از بین بروند. از این رو توصیه می‌شود برای بهره‌وری بهتر باغ‌های پسته از پایه‌های گرده افشان مناسب انتخاب شود و از گرده افشانی بین گونه‌ای اجتناب گردد و نیز دوره گلدهی پایه نر و ماده باید هماهنگ باشند.

واژه‌های کلیدی: پسته، تلاقی بین گونه‌ای، گرده افشانی و باروری

مقدمه

مشکلاتی که سبب ناباروری و یا ریزش میوه در درختان میوه و جنگلی می‌شوند، را می‌توان به اثرات متقابل والدین، فرایندهای متفاوت فیزیولوژی تولید مثل و نیز شرایط محیط تقسیم کرد. واکنش اندام نر و ماده که منجر به عقیمی می‌شود، بیشتر در مراحل اولیه (قبل یا پس از تلقیح) نمایان می‌گردد. گاهی این مشکلات به صورت بی‌نظمی‌هایی در رشد و نمو تخمدان از زمان شروع باروری تا بلوغ بذر در گیاهان مختلف گزارش شده است. Mikesell (۱۹۸۸) دریافت که ناباروری در گیاه فیتولاکا ممکن است در حین تشکیل کیسه جنین و یا در زمان رشد اولیه جنین (گلوله‌ای شدن جنین) اتفاق بیافتد. در بادام، مشکل ریزش میوه بلافاصله پس از گل (ریزش اولیه) و

با انباشت مقدار زیادی کالوز در آوندهای بن (شالاز) و یا در پوشش‌های تخمدان^۱ آغاز می‌شود. وجود کالوز مانع حرکت شیره گیاهی به داخل جنین شده و گاهی آوندها را مسدود و جنین را خفه می‌کند (Politi و Luza, ۱۹۹۱). در پسته مشکل ریزش اولیه میوه به مرگ تخمک قبل از زمان گرده افشانی و نیز نابودی کیسه جنینی پس از آن، نابودی اندامهای تخمدان و جنین اولیه در مراحل مقدماتی رشد ذکر شده و این روند ادامه می‌یابد و می‌توان برخی از این مشکلات را مراحل مختلف رشد میوه نیز مشاهده کرد. در این میان تخریب اغلب اندام‌های زایشی، جنین اولیه و آندوسپرم به وفور مشاهده می‌شود. ادامه تخریب ذخیره تخمدان (نوسلوس یا خورش)، تخریب شالاز و عدم تشکیل کیسه جنین نیز از دلایل ریزش میوه پسته ذکر شده است (Sedgley و Shuraki, ۱۹۹۶).

هدف از این آزمایش، مطالعه یک رقم گرده افشان و نیز رسیدن به زمان مناسب گرده افشانی در پسته است تا بتوان بر پاره‌ای از مشکلات فوق غلبه کرد.

سابقه تحقیق

مشکل ناباروری و ریزش میوه و گل در بسیاری از درختان مثمر و غیر مثمر گزارش شده است. ریزش اولیه گل و میوه در بین میوه‌های خوراکی تقریباً "عمومیت دارد، ولی هرگز سعی نمی‌شود کاملاً" جلوی آن گرفته شود. زیرا در اغلب میوه‌ها وقتی که حدود ۱۰ درصد گل‌ها به میوه تبدیل شود، میوه‌های مناسب و قابل رقابت در بازار به دست می‌آید. در بین درختان جنگلی و غیر مثمر، مشکل بی‌بذری و یا تولید بذر ناقص و ریزش میوه و گل به وفور دیده می‌شود ولی چون اغلب حالت سال آوری دارند کمتر کسی در پی حل این مشکل بوده است. برای نمونه، زبان گنجشک، صنوبر،

^۱ - Integuments

میموزا و شب خسب، بنه و سرو کوهی از گروه درختانی هستند که به میزان زیادی مشکل تولید بذر سالم دارند. در نارون مشکل عقیمی بذر به عدم سازگاری والدین^۱ مربوط می‌شود. در این مورد پلیمر بتا گلوکان مانع جوانه زنی کرده و رشد لوله کرده در بافت کلالة می‌شود (Bob و همکاران، ۱۹۸۶). عقیمی و بی‌بذری در بلوط بسته به زمان ریزش میوه، به عوامل مختلف ارتباط دارد. در این گیاه فرقی بین میوه‌های سالم و عقیم تا حدود دو هفته پس از لقاح گل دیده نمی‌شود. از آن زمان که رشد سریع میوه آغاز می‌شود، میوه‌هایی که به هر دلیل مشکل باروری دارند، از رشد باز می‌مانند که ممکن است به یکی از دلایل سقط تخمدان (تا میزان ۴۵٪)، و یا عدم تشکیل زیگوت (با وجود عمل لقاح)، باشد. در این مورد گاهی جنین در همان مراحل اولیه رشد از بین می‌رود (Mogensen، ۱۹۷۵). با انتخاب پایه مناسب گرده افشان از طریق مطالعه رشد و نمو لوله کرده در بافتهای اندام ماده بر این مشکل غلبه شده است. Pimienta و Polito (۱۹۸۲)، این مشکل را در بادام گزارش کردند. با انتخاب ارقام خود سازگار بادام این مشکل رفع شده است. مشکل عقیمی در گردو و علت ریزش اولیه میوه آن که در طول ۳ هفته پس از ظهور گل مشاهده می‌شود، به کمبود مواد غذایی خاک، به ویژه ترکیبات ازته و کمبود آب در طول این دوره نسبت داده شده است (Catlin و همکاران، ۱۹۸۷).

در یک مطالعه بر روی میوه‌های سالم و سقط شده پکان (گردوی گرمسیری) معلوم شد که میوه‌های ناقص حتی اگر در مراحل اولیه رشد هم ریزش نکنند، در طول فصل رویش از میوه‌های سالم کوچکتر هستند. مطالعات جنینی نشان داد که شکل کیسه جنین‌های سالم و ناقص با هم فرق داشت و در کیسه‌های جنینی ناقص زیگوت وجود نداشت و سلولهای آندوسپرم حالت عادی نداشتند و در میوه‌هایی که دیرتر

۱ Intra- and inter-specific incompatibility

ریزش کردند رشد جنین متوقف شده بود (Sparks و Yates، ۱۹۹۴). همین مشکل در فندق تا ۶ هفته اول پس از لقاح به بیشترین حد خود، یعنی ۹۰٪ کل ریزش، می‌رسد که به سرمای زمان لقاح و گرده افشانی نامناسب که می‌توانند موجب ریزش گل و پوکی فندق شوند، نسبت داده شده است (Thompson، ۱۹۷۹). ریزش میوه‌های اولیه و نارس پسته به دیکوگامی (رسیدن گلهای نر و ماده در دو زمان مختلف) بودن سیستم تولید مثل نسبت داده شده است (Whitehouse، ۱۹۵۰).

مواد و روش‌ها

مشخصات مکان انجام آزمایش

این آزمایش در در باغ گیاهشناسی ویت^۱ انجام شد که در ۳۴ درجه و ۵۸ دقیقه جنوبی و ۱۳۸ درجه و ۳۸ دقیقه شرقی در استرالیا واقع شده و میزان بارندگی آن ۶۲۰ میلیمتر در سال با آب و هوای مدیترانه‌ای معتدل است. ارتفاع این ناحیه از سطح دریا برابر ۱۲۲/۵ متر است. متوسط رطوبت نسبی محیط بین ۴۹ تا ۷۶ درصد در ماه‌های مختلف سال متغیر است. متوسط تغییرات دمای محیط از ۱۱ تا ۲۲ درجه سانتیگراد در سردترین و گرم‌ترین ماه‌های سال است. اگرچه سرمای زمستان به صفر درجه نزدیک می‌شود ولی دوره یخبندان ندارد. این ناحیه دارای تابستان‌های گرم و خشک با حد اکثر دمای ۳۵ درجه سانتیگراد است. در این ناحیه، پسته خوراکی در اوایل بهار و پسته‌های آتلانتیکا حدود یک ماه زود تر گل می‌دهند.

مواد آزمایش

تعداد پایه‌های انتخاب شده در این آزمایش ۴ اصله درخت میانسال بارور ماده از یک رقم پسته تجاری با نام Kerman و دو ژنوتیپ از پایه‌های نر گرده افشان به

^۱ Wate

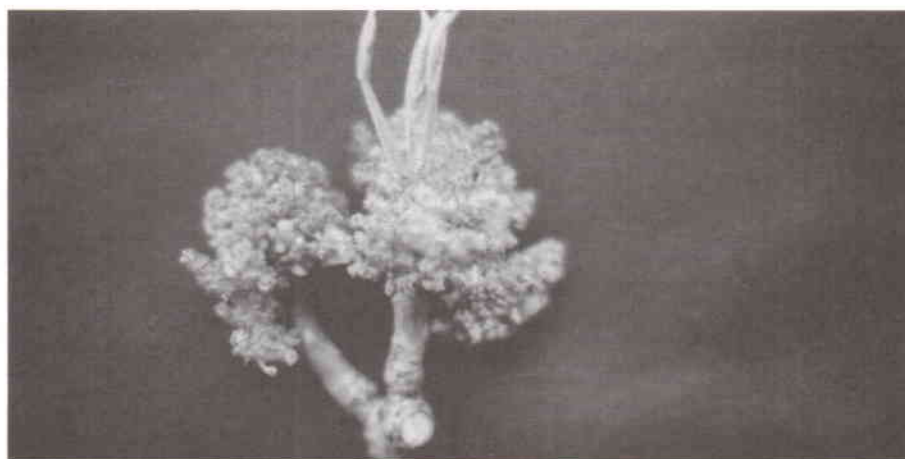
نام‌های، ۱۵-۱۲ و آتلانتیکا انتخاب شدند. کلیه شاخه‌های حامل جوانه گل که در یک سن بودند توسط کیسه از جنس لایی کت یا کاغذ سلوفان دارای دو دریچه 7×4 سانتیمتر برای نوردهی کافی و مشاهده وضعیت خوشه‌های گل، و برای جلوگیری از گرده افشانی ناخواسته، مجزا شدند (شکل شماره ۱). برای هر تیمار یا پایه‌های انتخابی، تقریباً ۱۰۰۰ عدد گل با شرایط مشابه مجزا شدند. با سرکشی مرتب به کیسه‌های حاوی خوشه‌های گل، به محض بلوغ ۳۰ درصد گل‌های هر خوشه، آنها را در یکی از ۵ گروه ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ روزه تقسیم شدند (شکل شماره ۲) و هر گروه برای یک بار با سرنگ یا گرده پاش، در زمان مناسب، گرده افشانی شدند. گرده از گل‌های پایه‌های مورد نظر در زمانی جمع آوری شد که اغلب کیسه‌های بساک رسیده و آماده شکفتن بودند (شکل شماره ۳). سپس گل‌های تلقیح شده در دو نوبت ۲۴ و ۴۸ ساعت، پس از گرده افشانی، نمونه برداری شدند (در این آزمایش گل‌ها تنک نشدند). تعداد نمونه‌های گرفته شده از هر خوشه متغیر بود. برای جلوگیری از خسارت پرندگان گل‌های تلقیح شده باقیمانده تا مرحله برداشت با کیسه توری پوشانده شدند (شکل شماره ۴). این کار برای تهیه نمونه در مراحل بعد و نیز برآورد میزان تلقیح واقعی (تبدیل گل به میوه رسیده) انجام شد. این عملیات در دو سال تکرار شد. داده‌های حاصل را با نرم افزارهای Genestat II و Poison binomial تجزیه و تحلیل شد.



شکل شماره ۱: چگونگی مجزا کردن (ایزولاسیون) خوشه‌های گل پسته در این آزمایش. هر کیسه دارای دو عدد دریچه شفاف است که نور از آن عبور می‌کند و می‌توان وضعیت گلها را زیر نظر داشت (مقیاس برابر یک متر است).



شکل شماره ۲: مراحل مختلف رشد گل که گرده افشانی انجام شدند. از چپ به راست: خوشه گل با ۳۰٪ گل بالغ، خوشه گل یک روز، دو روز، سه روز و چهارروز پس از مرحله بلوغ (مقیاس برابر ۱ سانتیمتر است).



شکل شماره ۳: خوشه‌های حاوی گل‌های نر بالغ پسته. در این مرحله بساک‌های بالغ تغییر رنگ داده و متورم شده اند و بهترین زمان برداشت گل جهت تهیه گرده است. در این مرحله حدود ۱۰-۱۵٪ بساکها شکفته اند (مقیاس برابر ۱ سانتیمتر است).



شکل شماره ۴: خوشه‌های گرده افشانی شده گل که پس از یک هفته از زمان گرده افشانی در کیسه‌های توری قرار داده شده اند تا میوه‌های حاصل در معرض پرندگان و تغذیه کنندگان دیگر قرار نگیرند (مقیاس برابر ۱ متر است).

روش‌های آزمایش

برای آزمون گرده‌های مورد نیاز از محیط کشت آگار ۱٪ و شکر ۱۰ درصد استفاده شد. ارزیابی توان باروری گرده‌ها در زمان برداشت گل نر و پس از ۲۴ ساعت کاشت بر روی محیط فوق، با شمارش تعداد دانه و لوله گرده، انجام شد. برای مطالعه قوه نامیه گرده بر سطح کلالة و رشد لوله گرده در بافت‌های گل ماده، از گل‌های میانی خوشه‌چه‌ها، از گل‌های بالغ و نیز نمونه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ روز پس از مرحله بلوغ (شکل شماره ۲)، و از شاهد در دو نوبت ۲۴ و ۴۸ ساعت نمونه جمع آوری شدند. نمونه‌ها را بلافاصله در محلول کارنویز (Carnoy's) (الکل اتیلیک خالص ۶ قسمت، کلروفرم ۳ قسمت، اسید استیک ۱ قسمت) تثبیت شدند. برای متعادل کردن روند تثبیت، نمونه‌ها بر روی یخ نگهداری و سپس به دمای ۴-۵ درجه یخچال منتقل شدند (می‌توان نمونه را بین ۲ ساعت تا ۲ هفته در این محلول نگهداری کرد). نمونه‌ها جهت مطالعه تعداد دانه گرده در سطح کلالة و تعداد لوله گرده در بافت‌های گل ماده به روش زیر آماده شدند.

آب‌دهی نمونه‌ها:

جهت آب‌دهی نمونه‌ها، نخست آنها را از محلول کارنویز به الکل اتیلیک ۷۰٪ منتقل کرده و برای مدت نیم ساعت در این محلول نگهداری شدند. در ادامه به الکل اتیلیک ۳۰٪ به مدت نیم تا یک ساعت و سرانجام به آب مقطر به مدت یک تا دو ساعت انتقال داده شدند.

نرم کردن نمونه‌ها:

نمونه‌ها برای نرم شدن در سود (NaOH) ۰/۸ نرمال و دمای ۶۰-۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. مدت نگهداری در سود، بسته به نرمی و

سختی بافت متغیر است. از نظر نرمالیتی نیز معمولاً ۱۶ گرم سود را در نیم لیتر آب مقطر حل کرده و استفاده می‌شود.

رنگ آمیزی نمونه‌ها:

نمونه‌های نرم شده در ماده آنیلین بلو رنگ آمیزی شدند. روش کار بدین صورت است که به میزان ۷/۶۷ گرم K_3PO_4 (۰/۱ نرمال) بعلاوه ۱۰ گرم رنگ آنیلین بلو را با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده و برای یک شب به هم زده می‌شود. سپس محلول حاصل صاف و استفاده می‌شود.

آماده کردن نمونه برای مشاهده:

نمونه‌هایی که به اندازه لازم نرم شدند، روی لام شیشه‌ای قرار داده و یک قطره گلیسرول ۸۰٪ روی آن ریخته می‌شود. سپس لامل را طوری روی نمونه می‌گذاریم که حباب هوا بین نمونه و لامل حبس نشود و به آرامی لامل را فشار می‌دهیم تا خوب نمونه له شود ولی نباید بافت‌ها از هم جدا شوند. در این حالت اگر نمونه به اندازه لازم نرم نشده باشد و یا به اندازه کافی در معرض کلروفورم قرار نگرفته باشد، نمونه‌ها زمخت و دارای رنگ قهوه‌ای و سبز و در کل تار هستند و نمی‌توان به درستی مسیر و تعداد لوله کرده را مطالعه کرد.

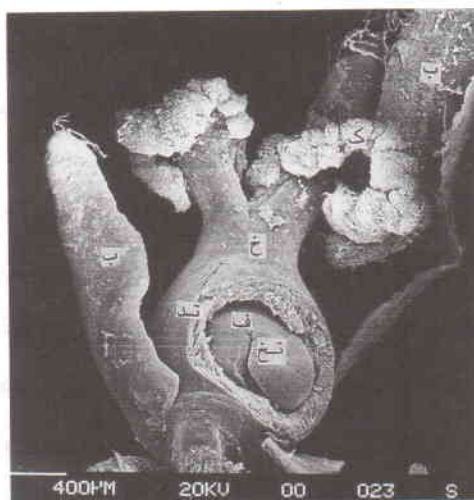
مشاهده نمونه‌ها:

در این آزمایش از نوعی میکروسکوپ زایس (Zeiss photomicroscope) مجهز به لامپ جیوه (HBO 100) با یک فیلتر BG3 و فیلتر محافظ ۶۵/۵۰ همراه با منشور تحریک کننده طیف نور حاصل از آنیلین بلو (طول موج 410 nm)

استفاده شد. در این روش، رنگ آنیلین بلو که مسیر عبور لوله گرده را مشخص می‌کند به صورت سفید مهبتابی مشاهده می‌شود.

عکس برداری:

از فیلم سیاه و سفید Ilford با حساسیت ۴۰۰ و یا فیلم رنگی Kodak با همان حساسیت برای عکس برداری از نمونه‌های زیر میکروسکوپ نوری استفاده شد.



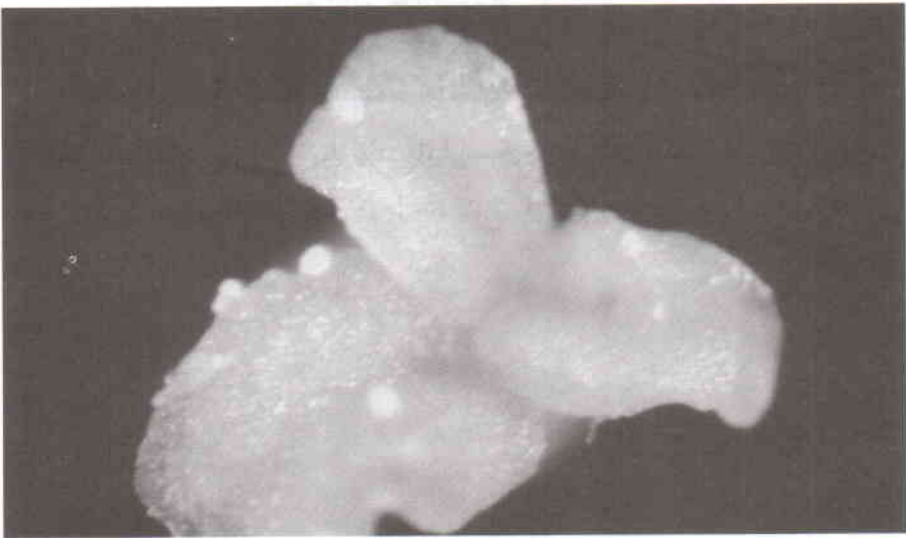
شکل شماره ۵: یک گل کامل پسته: بخش‌های بزرگ و ریز کلاله (ک)، خامه کوتاه و کلفت (خ)، تخمدان متورم و بزرگ (تد)، و تخمک نیمه واژگون (تخ) با فونیکول خمیده و طویل (ف) که بر روی یک دمگل درشت و کوتاه قرار گرفته و توسط ۵ براکته (ب) احاطه شده است.

نتایج:

هر گل ماده پسته دارای سه بخش متمایز است که این ویژگی در کلاله آن کاملاً مشهود است (شکل شماره ۵). تعداد گرده موجود (جوانه زده و جوانه نزده) در

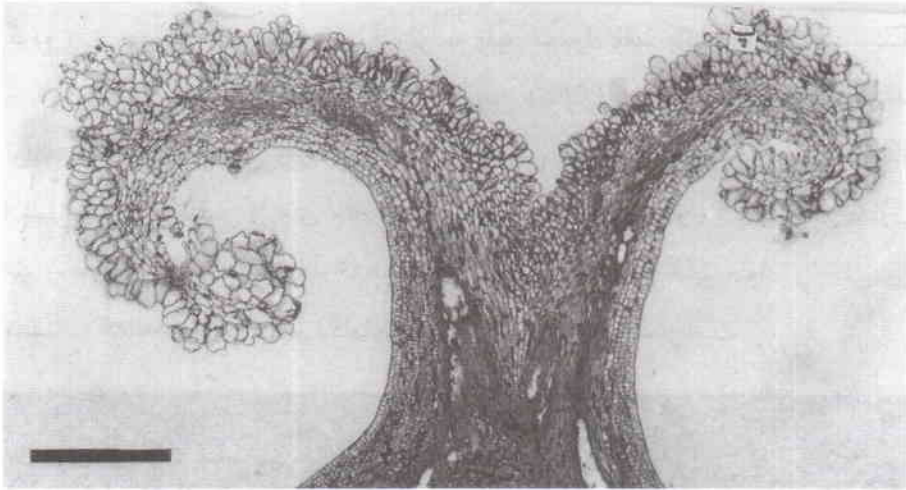
سطح کلاله، تعداد لوله گرده در بافت‌های کلاله، خامه (قسمت‌های بالا و بافت پایین خامه)، تخمدان و در بافت خورش (نوسلوس) شمارش شد، بیشترین تعداد گرده جوانه زده و رشد لوله گرده در ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از بلوغ گل بود (جدول‌های شماره ۱ و ۲). در شکل شماره ۶، علایم بلوغ در قسمت‌های مختلف کلاله گل مشهود است. بخش‌های کوچک کلاله دیرتر و بخش اصلی آن در مرحله اول بالغ می‌شوند. روند بلوغ کلاله بدین صورت است که سلول‌های درشت سطح کلاله (سلول‌های پایلی) متورم می‌شوند، سپس پایلی‌ها کاملاً از هم متمایز می‌شوند (شکل شماره ۷). وقتی بافت سطح کلاله گل پسته خوراکی به سن بلوغ می‌رسد، رنگ آن به صورتی می‌گراید و گرده درست در نقاط تغییر رنگ یافته مستقر می‌شود. شدت قرمزی سطح کلاله در پایه‌های مختلف پسته متغیر است ولی هرچه گل پیرتر می‌شود بر غلظت رنگ قرمزی سطح کلاله آن افزوده می‌شود و سرانجام قهوه‌ای تیره شده و کلاله می‌ریزد. ممکن است رنگ صورتی فقط در حاشیه کلاله ظاهر شود و در سطح کلاله بالغ گسترده نشود که در این صورت بقیه سطح کلاله حالت شیری رنگ دارد. در سطح کلاله بالغ مایه مغذی از بین پایلیها (برجستگی‌های سطح کلاله) به بیرون تراوش می‌کند (شکل شماره ۸) که این مایه بستر مناسبی برای جوانه زنی گرده و رشد لوله آن است. گل‌های ۴ روزه کمترین میزان گرده را بر روی سطح کلاله داشتند (شکل شماره ۹) و میزان لوله گرده موجود در بافت‌های اندام ماده آنها نیز بسیار کم بود، به ویژه وقتی که گرده مورد استفاده از گونه آتلانتیکا بود (جدول‌های شماره ۱ و ۲). علت آن را می‌توان در مرگ پایلی‌های سطح کلاله دانست (شکل شماره ۹). اغلب لوله‌های گرده موجود در اندام ماده گل‌های پیر دارای فرم‌های ناهنجار از قبیل متورم شدن، حلقه شدن، برگشتن از مسیر اصلی به طرف قسمت‌های جوان تر بافت، ترکیدن نوک لوله گرده و تخلیه مواد

درونی آن در بافت هادی لوله گرده^۱ و بافتهای مجاور، قبل از رسیدن به کیسه جنین بودند (شکل شماره ۱۰). بافت تخمدان گل‌های یک روزه دارای تعداد متنوع لوله گرده و تا حداکثر ۱۱ عدد لوله بود ولی به طور معمول فقط یکی از آنها وارد کیسه جنین می‌شد. لوله‌های گرده‌ای که از راه بن (شالاز) به بافت نوسل وارد شدند توانستند به کیسه جنینی وارد شوند. این آزمایش همچنین نشان داد که زمان گرده افشانی در میزان تلقیح گل‌های ماده بسیار تعیین کننده است (جدول شماره ۳). جداول شماره‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد که میزان گرده سطح کلاله‌های خیلی جوان و خیلی پیر نسبت به کلاله‌های جوان بالغ (گل‌های یک روزه و دو روزه) کمتر است.



شکل شماره ۶: بلوغ کلاله یک گل پسته. در این تصویر ناحیه بالغ با ته رنگ قرمز مشخص شده است. در ناحیه بالغ کلاله تعدادی گرده مستقر شده اند (مقیاس ۱ میلی‌متر را نشان می‌دهد).

^۱ - Transmitting tissue



شکل شماره ۷: پاپیله‌ها و سلول‌های پاپیلی متورم و درشت شده و چین خوردگی‌های سطح کلاله در مقطع یک گل پسته در مرحله بلوغ. (مقیاس ۱ میلی متر را بیان می‌کند).

جدول شماره ۱: میانگین \pm انحراف معیار، تعداد دانه گرده در سطح کلاله و لوله گرده در بافت‌های مختلف اندام ماده پسته کرمان که با رقم گرده افشان ۱۵-۱۲ در زمان بلوغ و ۱، ۲، ۳ و ۴ روز پس از آن گرده افشانی شده و در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد نمونه برداری صورت گرفته است.

خورش (نوسلوس)	تخمک	تخمندان	بافت پایین خامه	بافت بالایی خامه	بافت کلاله	دانه گرده بر سطح کلاله	ساعت
۰/۵۰ \pm ۰/۸۴۱	۱/۴۶ \pm ۰/۳۰۲	۲/۶۶ \pm ۰/۴۵۰	۲/۶۶ \pm ۰/۴۵۲	۲/۶۶ \pm ۰/۴۵۲	۲۵/۵ \pm ۶/۵۷	۷۳ \pm ۹/۲۸	*
۰/۸۷ \pm ۰/۰۸۰	۲/۸۶ \pm ۰/۳۰۲	۶/۴۷ \pm ۰/۴۵۲	۶/۴۷ \pm ۰/۴۵۲	۷/۸۷ \pm ۰/۶۰۴	۱۱۰/۳ \pm ۱۳/۸۲	۱۲۶ \pm ۱۴/۵۲	۱
۰/۸۰ \pm ۰/۰۵۵	۲/۲۰ \pm ۰/۸۸۸	۵/۹۰ \pm ۰/۴۰۵	۹/۲۳ \pm ۰/۵۵۰	۱۰/۶ \pm ۰/۵۷	۱۱/۸ \pm ۱۰/۴۷	۱۲۸ \pm ۱۰/۶۰	۲
*	۰/۲۲ \pm ۰/۰۹۲	۲/۵۰ \pm ۰/۳۷۰	۸/۳ \pm ۰/۷۰۶	۱۰/۵ \pm ۰/۷۲	۱۴۹ \pm ۱۳/۸۵	۱۶۹ \pm ۱۳/۳۹	۳
*	۰/۸۰ \pm ۰/۰۷۳	۰/۶۶ \pm ۰/۲۶۰	۰/۹۷ \pm ۰/۳۲۰	۱/۵۰ \pm ۰/۴۱۴	۷۲/۷ \pm ۱۱/۸۴	۱۱۰ \pm ۱۵/۷۷	۴
							۴۸ ساعت
۰/۴۳ \pm ۰/۸۴۱	۱/۰۳ \pm ۰/۲۰۰	۱/۹۷ \pm ۰/۳۰۲	۳/۶۶ \pm ۰/۴۱۶	۴/۳۲ \pm ۰/۴۵۹	۱۸/۷ \pm ۱۵/۵۰	۱۲۲/۵ \pm ۱۶/۲۵	*
۱/۲۰ \pm ۰/۲۱۱	۲/۲۰ \pm ۰/۲۴۲	۴/۳۳ \pm ۰/۴۶۸	۶/۸ \pm ۰/۵۸۸	۸/۱۷ \pm ۰/۶۵۹	۱۱۱ \pm ۱۳/۸۵	۱۲۲/۷ \pm ۱۴/۶۸	۱
۱/۳۳ \pm ۰/۸۹۲	۲/۳۶ \pm ۰/۲۴۲	۳/۶۰ \pm ۰/۳۰۹	۸/۳۳ \pm ۰/۸۲۸	۸/۸۳ \pm ۰/۸۶۴	۱۲۰/۳ \pm ۱۷/۰۵	۱۲۸/۵ \pm ۱۷/۹۵	۲
۱/۲۰ \pm ۰/۲۲۰	۲/۳۱ \pm ۰/۳۱۸	۳/۹۶ \pm ۰/۴۷۵	۷/۵۲ \pm ۰/۸۰۱	۸/۴۶ \pm ۰/۸۳۷	۱۳۵/۹ \pm ۱۷/۷۰	۱۴۸/۶ \pm ۱۸/۶۴	۳
۰/۲۰ \pm ۰/۸۸۰	۰/۴۳ \pm ۰/۲۱۸	۰/۵۰ \pm ۰/۲۲۲	۱/۰۶ \pm ۰/۲۹۹	۱/۸۳ \pm ۰/۴۷۹	۶۶/۳ \pm ۹/۲۴	۹۷/۶ \pm ۱۱/۷۹	۴

جدول شماره ۲: میانگین \pm انحراف معیار، تعداد دانه گرده در سطح کلاله و لوله گرده در بافت‌های مختلف اندام ماده پسته کرمان که با گرده پسته آتلانتیکا در زمان بلوغ و ۱، ۲، ۳ و ۴ روز پس از آن گرده افشانی شده و در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد نمونه برداری صورت گرفته است.

خورش (تولوس)	تخمک	تخمندان	بافت پایین خامه	بافت بالایی خامه	بافت کلاله	دانه گرده بر سطح کلاله	۲۴ ساعت
۰/۳۳±/۱۰۰۲	۰/۴۳±/۱۸۵۶	۱/۴۶±/۰/۴۲۲	۲/۱۳±/۰/۵۲۲	۲/۱۸±/۰/۵۹۰	۵۸/۶±۸/۸۲	۷۶/۶± ۶/۹۶	۰
۰/۳۶±/۱۱۲۲	۰/۴۶±/۱۸۸۴	۰/۴۳±/۰/۳۲۲	۲/۱۶±/۰/۴۶۰	۲/۲۳±/۰/۵۰۶	۹۸/۹±۱۵/۸۹	۱۰۶/۹±۱۶/۸۷	۱
۰/۶۷±/۱۱۷۵	۰/۴۶±/۱۸۵۷	۱/۸۶±/۰/۳۰۶	۲/۲۳±/۰/۵۸۶	۵/۸۶±/۰/۶۵۱	۱۲/۲±۱۵/۶۷	۱۳۹/۲±۱۶/۵	۲
۰/۴۰±/۱۱۲۲	۰/۸۶±/۰/۰۹۸	۰/۸۳±/۰/۳۲۰	۲/۲۰±/۰/۴۰۲	۲/۵۰±/۰/۵۲۵	۱۷۶/۵±۱۶/۰۹	۱۹۲/۷±۱۷/۶۵	۳
				۰/۸۰±/۰/۰۵۵	۶۷/۷±۹/۸۵	۱۱۲/۸±۱۲/۶۶	۴
							۴۸ ساعت
۰/۳۳±/۱۰۰۲	۰/۷۳±/۱۸۹۱	۱/۴۶±/۰/۳۲۲	۲/۱۷±/۰/۵۹۷	۲/۱۳±/۰/۶۲۹	۹۲/۲±۱۲/۲۵	۱۰۶/۲±۱۳/۹۶	۰
۰/۳۶±/۱۱۲۲	۰/۷۳±/۱۸۹۱	۱/۴۶±/۰/۳۸۸	۵/۹۶±/۰/۶۴۰	۶/۸۶±/۰/۷۲۵	۷۵±۹/۵۲	۸۲/۹±۱۰/۰۰۲	۱
۰/۶۷±/۱۱۷۵	۱/۳۳±/۰/۲۱۶	۲/۵۰±/۰/۴۲۹	۵/۹۳±/۱/۸۳۷	۶/۷۰±/۱/۸۱۹	۹۱/۶±۱۲/۲۱	۱۱۰/۲±۱۵/۲۸	۲
۰/۴۰±/۱۱۲۲	۰/۸۰±/۱۸۸۱	۱/۵۵±/۰/۳۷۶	۲/۷۶±/۰/۵۹۸	۲/۲۳±/۰/۵۶۳	۹۱/۸±۱۲/۸۵	۱۰۵/۸±۱۲/۵۲	۳
			۰/۳۶±/۱/۵۵	۰/۷۰±/۰/۲۲۰	۲۱/۵±۱۶/۴۲	۸۶/۷±۱۵/۲۷	۴

جدول شماره ۳: نتایج تجزیه داده‌های مربوط به تعداد گرده در سطح کلانه و تعداد لوله گرده در اندام‌های مختلف گل ماده.

نوسلوس	تخمک	تخمندان	پایین خامه	بالای خامه	بافت کلانه	سطح کلانه	منبع تغییرات
ns	ns	ns	***	ns	ns	ns	۱- زمان گرده افشانی
ns	ns	ns	***	ns	ns	*	۲- گرده
ns	***	ns	***	ns	ns	ns	۳- زمان نمونه برداری
ns	ns	**	ns	*	***	ns	اثر متقابل ۲×۱
*	ns	ns	ns	ns	***	ns	اثر متقابل ۳×۱
***	ns	***	ns	***	***	ns	اثر متقابل ۲×۲
ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	اثر متقابل ۲×۲×۱

ns - غیر معنی دار * - معنی دار در سطح ۰/۰۵ ** - معنی دار در سطح ۰/۰۱ *** - معنی دار در سطح ۰/۰۰۱

تعداد لوله گرده موجود در بخشهای دیگر گل‌های ماده نشان می‌دهد که طول عمر باروری گل پسته نسبتاً کوتاه است (جدول‌های شماره ۱ و ۲). در جدول شماره ۱ به وضوح مشاهده می‌شود که تلاقی بین گونه‌ای در پسته خوراکی باروری را به شدت کاهش می‌دهد و همانطور که مشاهده می‌شود هیچ گونه لوله گرده تا ۴ روز پس از بلوغ هم به بافت نوسل اطراف کیسه جنینی نفوذ نکرده است. اگر چه یکی از دلایل آن را می‌توان به توانایی باروری اندک گرده آتلانتیکا نسبت داد ولی ناسازگاری گونه‌های پسته نسبت به هم می‌تواند عامل اصلی باشد. بافت‌های مختلف یک گل پسته نیز نسبت به لوله گرده ناخواسته از خود واکنش متفاوت نشان می‌دهند.

در این آزمایش، افشاندن گرده به داخل کیسه ایزوله کننده گل‌ها، مانع رسیدن طبیعی و یکنواخت گرده به سطح کلاله می‌شود و اغلب کلاله‌ها دارای بیش از حد طبیعی گرده در سطح خود و نیز تعداد لوله گرده بیشتری نسبت به حالت طبیعی در بافت‌ها هستند (جدول‌های شماره ۱ و ۲). این پدیده موجب مشکل شمارش دانه گرده در سطح کلاله و نیز شمارش لوله گرده در بافت بالای کلاله می‌شود که اغلب باید به طور تقریب محاسبه شوند. گل‌های باقی مانده در هر کیسه را برای مطالعه تولید میوه استفاده شد و گل‌های اروزه و ۲روزه پس از بلوغ، بیشترین میزان تولید میوه سالم را به خود اختصاص دادند (جدول شماره ۴).

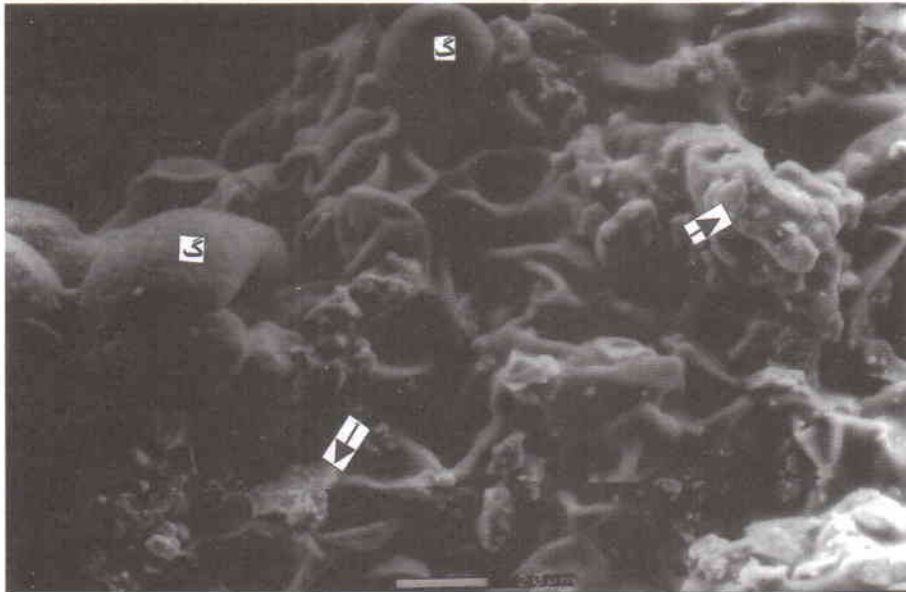
جدول شماره ۴: درصد میوه نشینی گل‌های پسته کرمان پس از گرده افشانی با گرده رقم ۱۵-۱۲ در زمان بلوغ گل و ۴ روز پس از آن. (شاهد گرده افشانی نشد و بعضی از میوه‌ها نیز در گروه‌های مختلف قرار گرفتند، به عنوان مثال، میوه‌ای ممکن است هم دهان بسته باشد و هم پوک که در دو گروه قرار می‌گیرد).

روز گرده افشانی	گل گرده افشانی	میوه باقی مانده	میوه سالم و خندان	میوه دهان بسته	میوه پوک	میوه نیم مغز	میوه بد شکل
۰	۸۰۳	۲۸	۴	۷	۲۳	۲	۲
۱	۸۵۱	۱۲۹	۱۳	۵۲	۴۷	۱۴	۳
۲	۷۶۱	۸۵	۱۲	۲۳	۳۰	۱۳	۷
۳	۸۱۱	۳۵	۰	۲	۲۶	۲	۵
۴	۷۶۴	۰	۰	۰	۰	۰	۰
شاهد		۲	۰	۰	۲	۰	۰

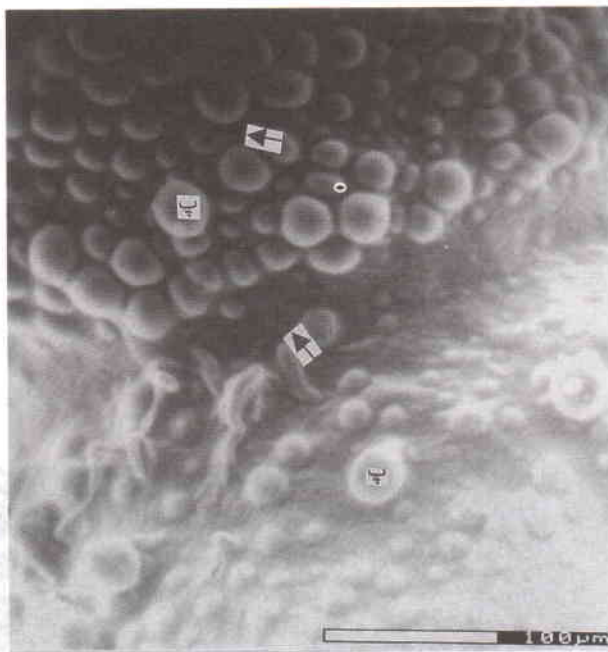
جدول شماره ۵: درصد میوه نشینی گل‌های پسته کرمان با گرده پسته آتلانتیکا پس از گرده افشانی در زمان بلوغ گل و ۴ روز پس از آن. شاهد گرده افشانی نشده است و بعضی از میوه‌ها در گروه‌های مختلف تکرار شده‌اند.

روز گرده افشانی	گل گرده افشانی شده	میوه باقی مانده	میوه سالم و خندان	میوه دهان بسته	میوه پوک	میوه نیم مغز	میوه بد شکل
۰	۸۰۳	۲۶	۰	۲	۲۱	۳	۰
۱	۸۵۱	۱۷	۱	۰	۱۶	۰	۳
۲	۷۶۴	۲۳	۰	۶	۲۷	۰	۰
۳	۹۱۸	۱۲	۰	۰	۱۲	۰	۱
۴	۷۶۴	۶	۰	۰	۶	۰	۰
شاهد	۷۸۳	۰	۰	۰	۰	۰	۰

اگر گرده استفاده شده از گونه غیر خوراکی آتلانتیکا باشد، مشکل ریزش گلها به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (جدول شماره ۵)، میوه‌های پوک و نیم مغز بیان کننده محدودیت رشد جنین‌های اولیه تلاقی‌های بین گونه‌ای است. وجود میوه در تیمار شاهد (جدول شماره ۴) صرفاً بیان کننده وجود پدیده پارتنوکاری در پسته است و این مشکل در مناطقی که پایه گرده افشان مناسب موجود نباشد تشدید می‌شود. گاهی قریب به اتفاق میوه‌های موجود در زمان بلوغ میوه پوک (پارتنوکارپ) هستند که علامت آن رنگ نگرفتن و یا خیلی دیر رنگ گرفتن پوست بیرونی است.



شکل شماره ۸: عکس میکروسکوپ الکترونی، سطح کلاله بالغ را در بهترین شرایط برای باروری بیان می‌کند. سلولهای پایلی (پ) در یک محلول مغذی بین سلولی (نوک پیکان) غوطه ور شده اند.



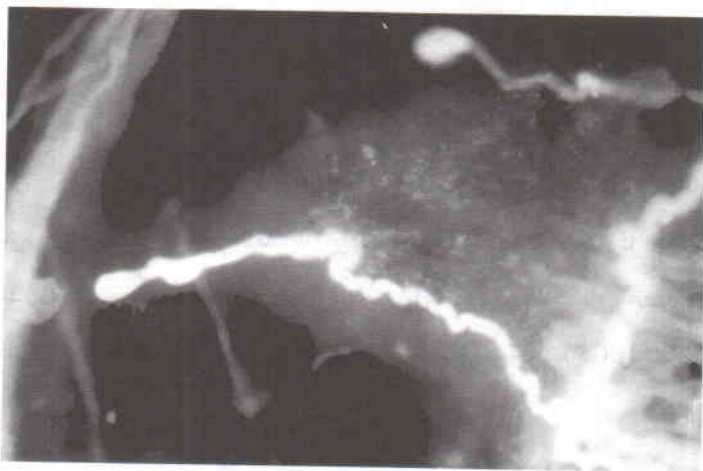
شکل شماره ۹: تصویر نشانگر نامساعد بودن بافت سطح کلاله یک گل پیر پسته است. چروک شدن بافت سطح کلاله، تجمع ترکیبات زاید و پس مانده‌های عصاره بین سلولی (نوک پیکان) و وضع خشکیدگی و چروکیدگی گرده‌های موجود (گ) را نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه گیری:

در این آزمایش مشخص شد که بیشترین میزان باروری و تولید میوه مربوط به گل‌هایی است که از بلوغ آنها یک روز و یا حد اکثر دو روز گذشته باشد و گل‌هایی که سه روز از بلوغ آنها گذشته است می‌توانند به حد کافی از لوله گرده در بافت‌های خود حمایت کنند ولی کیسه جنینی عقیم شده و سلول تخم یا سلول قطبی و یا سلول‌های معبر لوله گرده در کیسه جنینی (سینرژیدها) توان خود را از دست داده اند. در گل‌های پیر چهار روزه، بافت‌ها حتی توان تحمل لوله گرده را ندارند. در این حالت، امکان ورود لوله گرده به محیط کیسه جنینی غیر ممکن شده و یا ورود آن بی ثمر است و اغلب بافت‌های پیر نمی‌توانند بستر مناسب رشد لوله گرده را فراهم کنند.

پدیده رشد بطئی لوله‌گرده و عقیمی کیسه جنینی در گل‌های پیر که منجر به کمبود میوه و بذر می‌شود در گیاهان دیگر از قبیل کائوچو و آووکادو نیز گزارش شده است (Sedgley, ۱۹۷۷, و Attanayake و Sedgley, ۱۹۸۸).

این آزمایش نشان داد که گرده پسته خوراکی بر روی گل ماده همین گونه تولید میوه بیشتر با کیفیت بهتر می‌کند، تا گرده پسته آتلانتیکا. این نتایج با آزمایش‌های دو سال پی در پی مورد بررسی و تایید قرار گرفت. این پدیده می‌تواند به خاطر ناسازگاری بین گونه‌ای باشد.



شکل شماره ۱۰: اندامهای یک گل پیر مانع رشد و نمو لوله‌گرده می‌شوند و معمولاً لوله‌گرده در این بافت‌ها به ناهنجاری‌هایی مبتلا می‌شوند. در این شکل پیچ خوردگی و تورم نوک لوله‌های گرده را نشان می‌دهد (مقیاس ۴۰۰ میکرو متر).

پسته آتلانتیکا به علت مقاومت خوبی که نسبت به بیماری‌های خاک‌زی دارد به عنوان پایه پسته خوراکی مطرح هست و می‌توان پایه‌هایی از آن را در اطراف باغات پسته یافت. همزمانی گلدهی بین پسته آتلانتیکا و پسته خوراکی مشاهده نمی‌شود، با

وجود این دوره باز شدن گلها تا حدی طولانی است و درصد کمی از گلهای نر آن به حدی دیر باز می‌شوند که با گرده افشانی پسته خوراکی همزمان می‌شوند. این پدیده در مواردی به عنوان مشکل باروری در پسته‌های خوراکی گزارش شده است. Stone و Whitehouse (۱۹۴۱) در این رابطه علاوه بر میوه نشینی کمتر بر اثر گرده افشانی با گرده پسته آتلانتیکا، تولید میوه‌های ریزتر و بدشکل نیز توسط Crane و Iwakiri (۱۹۸۰) گزارش شده است. در این مطالعه رشد لوله گرده همه ژنوتیپ‌ها در بافت‌های گل‌های پیر بطنی بود و هرچه بر سن گل افزوده می‌شد لوله گرده کمتری در آنها دیده می‌شد، همچنین گل‌های خیلی جوان نیز توان حمایت از گرده و رشد لوله گرده را ندارند.

تمام لوله‌های گرده‌ای که از راه شالاز (بن) وارد بافت نوسل (خورش) شده بودند، توانستند کیسه گرده را بارور کنند و در واقع پسته یک گیاه شالازوگام است. این پدیده قبلاً گزارش شده است.

وجود میوه‌های پوک در هر دو گروه خوشه‌های گرده افشانی شده و شاهد مشاهده شد که بیان کننده وجود سیستم پارتنوکاری ریویشی^۱ و پارتنوکاری تحریکی^۲ در پسته است. این پدیده اهمیت انتخاب پایه‌های گرده افشان را در پسته بیان می‌کند.

منابع مورد استفاده:

- Bob, C.F., B.L. Redmond, and D.F. Karnosky, 1986. On the nature of intra- and inter-specific incompatibility in *Ulmus*. American Journal of Botany 73: 465-474.
- Catlin, P.B., D.E.Ramos, G.S.Sibbett, W.H.Olson and E.A. Olsson, 1987. Pistilate flower abscission of the persion walnut. HortScience 22: 201-205.

^۱ Vegetative parthenocarpy

^۲ Stimulative parthenocarpy

- Crane, J.C. and B.T. Iwakiri, 1980. Xenia and metaxenia in pistachio. Horticultural Reviews 3: 376-393.
- Luza, J. G. and V. S. Polito, 1991. Porogamy and chalazogamy in walnut (Juglandaceae). Botanical Gazette, 152: 100-106.
- Mikesell, J., 1988. Comparative development of viable and aborted ovules in *Phytolacca americana* L. (Phytolaccaceae). Botanical Gazette 149: 196-202.
- Mogensen, H.L., 1975. Ovule abortion in *Quercus* (Fagaceae). American Journal of Botany 62: 160-165.
- Pimienta, E. and V.S. Polito, 1982. Ovule abortion in 'Nonpariel' almond (*Prunus dulcis* (Mill.), D.A. Webb.) as affected by cross-, self- and non-pollination. Annals of Botany 51: 469-479.
- Sedgley, M. 1977b. Reduced pollen tube growth and the presence of callose in the pistil if the male floral stage of avocado. Scientia Horticulturae 7: 27-36.
- Sedgley, M. and D.P.S.T.G. Attanayake, 1988. The breeding system of rubber (*Hevea brasiliensis*): an evolution of controlled hand pollination method. Euphytica 39: 83-91.
- Shuraki, Y.D. and M. Sedgley, 1996. Fruit development of *Pistacia vera* (Anacardiaceae) in relation to embryo abortion and abnormalities at maturity. Australian Journal of Botany 44: 35-45.
- Tampson, M.M., 1979. Growth and development of the pistillate flower and nut in 'Barcelona' filbert. Journal of the American Society for Horticultural Science 104: 427-432.
- Whitehouse, H.L.K., 1950. Multiple-allelomorph incompatibility of pollen and style in the evolution of the angiosperms. Annals of Botany 54: 201-215.
- Whitehouse, W.E. and C.L. Stone, 1941. Some aspects of dicogamy and pollination in pistachio. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 39: 95-100.
- Yates, I.E. and D. Sparks, 1994. Anatomy differs for aborting and nonaborting pistillate flowers in pecan. Journal of the American Society for Horticultural Science 119: 949-955.

Fertilization, inter- and intera- specific hybridization in *Pistacia* sp.

Yahya Dehghani Shuraki¹

Abstract

In pistachio, the majority of fruits do not reach maturity and drop up to 8 weeks after pollination. The fruits that reach maturity, a proportion are abnormal, seedless (blank) or their shell are not split. In this study, pollination and fruit development were investigated in relation to abscission and abnormalities.

A medium containing 1% agar and 10% sucrose was used to assess the pollen quality. Fresh and 24 hours dried pollen showed high germination *in vitro* as did pollen stored at freezer (-15 °C) up to usage time. The stigma surface of *Pistacia vera* turned to pale red with some secretion on top and among papillae at anthesis. Female *Pistacia vera* trees were hand pollinated with pollen from male of *P. atlantica* and *P. vera* at 0, 1, 2, 3, and 4 days after anthesis. Results were measured by mature fruit set and by fluorescence microscopy of pollen germination and tube growth in the pistil. Maximum pollen tube growth and fruit set of split nuts was achieved following pollination within two days of anthesis. Three days old pistils supported pollen tube growth, but fruit set was low. Four days old pistils supported little pollen tube growth and fruit set. Significant differences were also apparent between pollen parent, with low pollen tube growth and fruit set following inter-specific pollination with *P. atlantica* pollen. All pollen tubes were observed to penetrate chalazogamously, and parthenocarpic production of blank fruits occurred in both unpollinated and pollinated treatments. The results indicated that for optimum fruit production of pistachio, pollen transfer must be achieved within two days of anthesis and inter-specific pollinator genotypes should be abandoned.

Key words: Pistachio, Interspecific hybridization, Pollination, and Fertilization.

¹ - Forests and Rangelands Research Institute, P.O. Box 13185-116, Tehran, IRAN.

