



بررسی کمی و عددی تولید گرده در ژنوتیپ‌های نر مختلف پسته با استفاده از لام هموسیتومتر

محمد اسماعیلی^۱، محمدمهدی شریفانی^۲، حسین حکم‌آبادی^۳، مهدی علیزاده^۴، امیر احمد دهقانی^۵، بنیامین ترابی^۶ دانش آموخته ارشد، دانشیار^{۵،۲}، گروه باغبانی، گروه مهندسی آب^۴، گروه زراعت^۶، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، عضو هیات علمی دانشگاه آزاد دامغان و سازمان ترویج و تحقیقات کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی
مسئول نویسنده: mmsharif2@gmail.com

چکیده

به منظور بررسی و مقایسه میزان تولید گرده در ژنوتیپ‌های نر مختلف آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۵ تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل ۵ ژنوتیپ نر P_1 ، P_5 ، P_7 ، P_{15} و P_{34} بود با استفاده از لام هموسیتومتر تعداد دانه‌های گرده در یک گرم گرده، در یک گل‌آذین و کل درخت برآورد شد. نتایج حاصل نشان داد که تعداد دانه گرده در هر گرم برابر با ۵۸۰۰۰۰۰۰ عدد، در هر گل‌آذین ۱۳۲۷۲۰۰۰ عدد و در کل درخت مورد مطالعه ۲۷۳۶۶۸۴۶۰۰۰ عدد دانه گرده می‌باشد. میانگین وزن گرده تولیدی هر گل‌آذین ۲۳۷ میلی‌گرم و تعداد گل‌آذین‌های درخت نر ۲۰۶۲ گل‌آذین به دست آمد. همچنین اندازه دانه‌های گرده در درخت نر مورد مطالعه برابر با ۴۰ میکرومتر در طول و ۳۰ میکرومتر در عرض بود. وزن گرده و تعداد دانه گرده هر گل‌آذین و کل گل‌آذین‌های یک درخت در هر کدام از این ژنوتیپ‌ها به دست آمد ژنوتیپ‌های نر از نظر وزن گرده هر گل‌آذین اختلاف معنی‌داری نشان ندادند باین حال دامنه آن‌ها از ۴/۸۹۱ گرم برای ژنوتیپ P_7 تا ۳/۳۰۷ گرم در ژنوتیپ P_{15} بود. ژنوتیپ‌های نر از نظر وزن و تعداد دانه گرده حاصل از گل‌آذین نیز اختلاف معنی‌داری نشان ندادند و دامنه وزن گرده در آن‌ها از ۱۸۶ میلی‌گرم برای ژنوتیپ P_7 تا ۲۹۲ میلی‌گرم در ژنوتیپ P_{34} و دامنه تعداد دانه گرده در گل‌آذین از ۱۰۴۵۷۰۶۷ برای ژنوتیپ P_7 تا ۱۶۳۶۳۲۰۰ دانه گرده در ژنوتیپ P_{34} بود.

کلمات کلیدی: تولید گرده در پسته، قطر دانه گرده پسته، لام هموسیتومتر.

مقدمه

پسته (*pistaciavera*) میوه‌ای خشکباری است که در اقتصاد ایران جایگاه ویژه‌ای دارد. ایران با تولید حدود ۲۶۰ هزار تن پسته در سال ۲۰۱۵، یکی از مهم‌ترین تولیدکنندگان پسته در دنیا می‌باشد. بر اساس گزارش سازمان خواروبار و کشاورزی جهانی^۱، سطح زیر کشت این محصول در ایران بیش از ۳۳۵۲۹۴/۳ هکتار گزارش گردیده است (آمارنامه کشاورزی محصولات باغی، ۱۳۹۴). درخت پسته دوپایه می‌باشد، یعنی گل‌های نر روی یک درخت و گل‌های ماده روی درخت دیگر قرار دارند. گل‌ها در پسته بدون گلبرگ و بدون شهد می‌باشد و به همین علت حشرات نقشی در گرده‌افشانی پسته ندارند و عامل اصلی در گرده‌افشانی پسته باد می‌باشد. برای تشکیل میوه در پسته هم درختان ماده و هم درختان نر تأثیر دارند. در ایران ارقام ماده مهم و تجاری پسته عبارت‌اند از: اکبری، کله قوچی، احمد آقایی، اوحدی، ممتاز، شاه‌پسند و بادامی‌زرد (Panahi and Talaei, 2002). در مورد ارقام نر در آمریکا رقم پیتر به‌عنوان رقم نر اصلی مورد استفاده قرار می‌گیرد اما در ایران رقم نری وجود ندارد ولی ژنوتیپ‌های نر بسیار زیاد و مختلفی در ایران موجود هستند (Panahi and Talaei, 2002).



برای انتخاب درختان نر در باغ‌های پسته سه نکته مهم ضروری است:

۱- انتخاب درختان نر که از نظر گلدهی همزمان با رقم ماده مورد نظر باشند.

۲- استفاده از درختان با مقدار مناسب دانه گرده

۳- بالا بودن قدرت جوانه‌زنی و باروری دانه‌های گرده (ریاضی، ۱۳۷۳).

باوجود اینکه تحقیقات قابل توجهی در مورد ارقام ماده در کشورهای مختلف انجام شده است (Avanzato *et al.*, 1981; Spiegel-Roy *et al.*, 1972; Whitehouse *et al.*, 1941) همچنین تحقیقات زیادی در گیاهان حشره گرده‌افشان و گونه‌های بادگرده‌افشان درباره میزان تولید گرده انجام شده است (Oberle & Goertzen, 1952; Godini, 1981; Traynor, 1981; De Grandi-Hoffman *et al.*, 1991; Szabo *et al.*, 1996). اما در پسته با توجه به این که گیاهی بادگرده‌افشان می‌باشد تحقیقاتی درباره میزان تولید گرده در آن انجام نشده است. هدف از انجام این پژوهش برآورد میزان تولید گرده در یک درخت و همچنین بررسی و مقایسه تولید گرده در ژنوتیپ‌های نر مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۵ در ایستگاه تحقیقات پسته دامغان و در دو بخش انجام شد. آزمایش اول به منظور برآورد مقدار تولید دانه گرده در درخت نر که عمری حدود ۲۰ سال داشت، انجام گردید و آزمایش دوم به منظور بررسی و مقایسه تولید گرده در ۵ ژنوتیپ درخت نر (P_1, P_2, P_3, P_4, P_5) واقع در کلکسیون درختان نر همین ایستگاه انجام شد.

آزمایش برآورد تولید دانه گرده در درخت نر

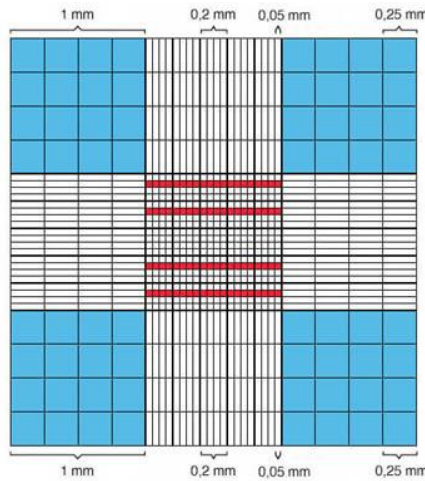
جمع‌آوری دانه‌های گرده

به منظور جمع‌آوری دانه‌های گرده، وقتی که گل‌آذین‌های نر به رنگ زرد تغییر رنگ دادند، گل‌آذین‌ها از چهار طرف درخت برداشت شدند و به آزمایشگاه انتقال یافتند و به مدت یک شب بر روی کاغذ آلومینیمی قرار داده شدند تا بساک‌ها و گرده‌ها روی کاغذ بریزند. سپس الک شدند تا دانه‌های گرده از بساک جدا شوند و در مرحله بعد به شیشه‌های مخصوص نگهداری گرده انتقال یافتند.

شمارش دانه‌های گرده توسط هموسیتومتر

تعداد دانه گرده در ۱ گرم گرده

به منظور شمارش دانه‌های گرده از لام هموسیتومتر (نئوبار) و میکروسکوپ استفاده شد. یک گرم دانه گرده در ۵۰ میلی‌لیتر آب به حالت سوسپانسیون درآمد، سپس با استفاده از سمپلر مقداری از محلول برداشته شد و در دوخانه اصلی لام قرار داده شد و لامل مخصوص بر روی آن قرار داده شد تا محلول اضافی از خانه‌های لام خارج گردد. لام نئوبار شامل ۹ مربع بزرگ است که حجم هر کدام از مربع‌ها ۰/۱ میلی‌متر مکعب می‌باشد. برای به دست آوردن تعداد دانه‌های گرده در ۱ میلی‌لیتر دانه‌های گرده چهار مربع کناری شمارش شد و میانگین تعداد دانه گرده در هر مربع در عدد ۱۰۰۰۰ ضرب شد (هر میلی‌لیتر برابر با ۱۰۰۰ میلی‌متر مکعب است) سپس در عدد ۵۰ ضرب شد و تعداد دانه گرده در ۱ گرم به دست آمد.



شکل ۱: اتافک‌های شمارش کننده در لام هموسیتومتر

تعداد دانه گرده در هر گل آذین

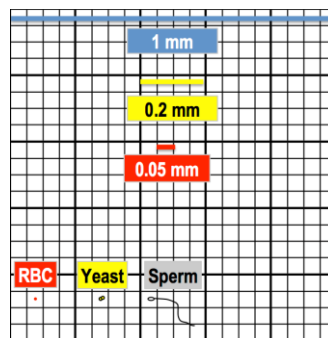
برای این منظور تعداد ۲۰ گل آذین که رسیده بودند به صورت تصادفی از چهار طرف درخت جمع‌آوری شد و به مدت ۳ روز بر روی کاغذ قرار داده شد تا همه دانه‌های گرده آن‌ها آزاد شوند، سپس از الک ریز عبور داده و توزین شدند و به این ترتیب میانگین وزن گرده تولیدی در هر گل آذین حاصل گردید. با استفاده از تعداد دانه گرده محاسبه شده در یک گرم و روش تناسب، تعداد دانه گرده موجود در هر گل آذین به دست آمد.

تعداد دانه گرده در درخت نر مورد مطالعه

برای این منظور شاخه‌های اصلی درخت مشخص شد که شامل ۱۰ شاخه بود. تعداد گل آذین‌های ۵ شاخه به صورت تصادفی شمارش گردید و تعداد کل گل آذین‌های تولیدی درخت به دست آمد. سپس با استفاده از تعداد دانه گرده محاسبه شده در هر گل آذین و داشتن تعداد گل آذین‌های درخت تعداد دانه گرده در درخت مورد مطالعه به دست آمد.

اندازه‌گیری قطر دانه‌های گرده توسط لام هموسیتومتر

به منظور اندازه‌گیری قطر دانه گرده، از دانه گرده در زیر میکروسکوپ عکس گرفته شد. (لام هموسیتومتر مدرج بوده و اندازه هر خانه در آن مشخص می‌باشد (شکل ۲)). عکس گرفته شده توسط نرم‌افزار Image J باز شد و یک خط بین دو نقطه که اندازه آن مشخص بود کشیده شد سپس به قسمت Analyse و Scale رفته، در این پنجره طول خط کشیده شده برحسب پیکسل نشان داده می‌شود، فاصله خط و واحد طول آن در قسمت‌های مربوطه نوشته شد و قطر دانه گرده اندازه‌گیری شد.



شکل: اندازه‌های خانه‌ها در ناحیه شمارش مرکزی، لام هموسیتومتر



ارزیابی تولید گرده در ۵ ژنوتیپ درخت نر

این آزمایش باهدف بررسی مقدار تولید گرده در ژنوتیپ‌های مختلف پسته (P_{34} , P_{15} , P_V , P_5 , P_1) انجام شد. برای این منظور در هنگام گلدهی وقتی که گل‌آذین‌ها به رنگ زرد تغییر رنگ دادند به‌طور تصادفی پنج گل‌آذین از هر ژنوتیپ برداشت شد سپس گل‌آذین‌ها توزین شده و به مدت سه روز بر روی کاغذ آلومینیومی قرار داده شدند تا تمام دانه‌های گرده آن‌ها آزاد شوند سپس با استفاده از الک ریز الک شدند و وزن دانه‌های گرده و تعداد دانه‌های گرده در هر گل‌آذین به دست آمد. داده‌های حاصل از این آزمایش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و با پنج تکرار با استفاده از تجزیه آماری نرم‌افزار SAS 9.0 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش برآورد تولید گرده در درخت نر

با استفاده از لام هموسیتومتر تعداد دانه‌های گرده در یک گرم گرده، در یک گل‌آذین و کل درخت برآورد شد. نتایج حاصل نشان داد که تعداد دانه گرده در هر گرم برابر با ۵۸۰۰۰۰۰۰، در هر گل‌آذین ۱۳۲۷۲۰۰۰ و در کل درخت مورد مطالعه ۲۷۳۶۶۸۴۶۰۰۰ گرده می‌باشد.

میانگین وزن گرده تولیدی هر گل‌آذین ۲۳۷ میلی‌گرم و تعداد گل‌آذین‌های درخت نر ۲۰۶۲ گل‌آذین به دست آمد. همچنین اندازه دانه‌های گرده در درخت نر مورد مطالعه برابر با ۴۰ میکرومتر در طول و ۳۰ میکرومتر در عرض بود.

نتایج ارزیابی تولید گرده در ژنوتیپ‌های مختلف

جدول ۱: مقایسه وزن گل‌آذین، وزن گرده و تعداد دانه گرده در هر گل‌آذین در ژنوتیپ‌های نر مختلف

ژنوتیپ	MS	P_1	P_5	P_V	P_{15}	$34P$
صفت						
وزن گل‌آذین	۱/۲۹۴ ^{ns}	۴/۲۹۳ ^{ab}	۳/۹۴۳ ^{ab}	۴/۸۹۱ ^a	۳/۳۰۷ ^b	۴/۸۲۴ ^a
وزن گرده در گل‌آذین	۴۸۳۴/۴۹ ^{ns}	۲۲۵ ^a	۲۵۹ ^a	۱۸۶ ^a	۲۲۱ ^a	۲۹۲ ^a
تعداد دانه گرده در گل‌آذین	۱/۵۱۶ ^{ns}	۱۲۶۰۳۷۳۳ ^a	۱۴۵۲۲۶۶۷ ^a	۱۰۴۵۷۰۶۷ ^a	۱۲۴۲۰۸۰۰ ^a	۱۶۳۶۳۲۰۰ ^a

این آزمایش به‌منظور بررسی و مقایسه میزان تولید گرده در ژنوتیپ‌های نر مختلف انجام گرفت نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که میزان تولید گرده در ژنوتیپ‌های نر از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد.

در تحقیقی که کامیاب و همکاران (۱۳۸۶) بر روی زمان گلدهی، کمیت و کیفیت دانه گرده برخی از ژنوتیپ‌های پسته انجام دادند به این نتیجه رسیدند که بین ژنوتیپ‌های مختلف هم از نظر اندازه گل‌آذین و هم از نظر مقدار دانه گرده در آن‌ها اختلاف زیادی وجود داشت که با نتایج تحقیق ما مغایرت دارد. همچنین آن‌ها به این نتیجه رسیدند که بین اندازه گل‌آذین و مقدار دانه گرده رابطه مثبت وجود ندارد به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های با اندازه گل‌آذین کوچک‌تر دانه گرده بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌هایی با گل‌آذین بزرگ‌تر تولید کردند که این تا حدودی موافق با نتایج تحقیق ما با توجه به ژنوتیپ P_V که دارای بیشترین وزن گل‌آذین (۴/۸۹۱ گرم) در بین ژنوتیپ‌ها بود و کمترین میزان دانه گرده (۱۸۶ میلی‌گرم) را تولید کرد می‌باشد و همچنین موافق با نتایج استر مارتیز و ماریا هرو که نشان دادند، اختلاف بسیار زیادی از نظر اندازه گل‌آذین و مقدار دانه گرده در هر گل‌آذین در ارقام آزمایش شده اسپانیا وجود دارد.



منابع

بی‌نام، آمارنامه کشاورزی محصولات باغی، دفتر آمار و فناوری اطلاعات، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی وزارت جهاد کشاورزی، صفحه ۲۰۱، ۱۳۹۴.

ریاضی، ق. گرده‌افشانی در پسته و تأثیر آن بر رشد و نمو آن. نشریه پژوهش و سازندگی ۲۳: ۱۹-۱۷. ۱۳۷۳.

کامیاب، ف. وزوایی، ع. عبادی، ع و پناهی، ب. زمان گلدهی، کمیت و کیفیت دانه گرده برخی از ژنوتیپ‌های پسته (*Pistacia vera* L) در رفسنجان. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۴۱: ۱۳۹-۱۳۱. ۱۳۸۶.

Godini, A. Counting pollen grains of some almond varieties by means of a haemocytometer, Riv. Ortoflorofruttic. Ital, 1981, 65, 173-178.

Panahi, B. and Talaie, A. Survey and characterization of Pistachio germplasm in Iran, ActaHort, 2002, 591: 263-264.

Avanzato, D. and Monastra, F. Coltura del pistachio. Situazioneattualericerche in corso, Frutticoltura, 198. 1, 52: 1-10.

Martinez-palle, E. and Herrero, M. Male performance in pistachio (*Pistacia vera*), J. Hort. Sci, 1994, 69 (6): 1117-1122.

Quantification and numerical assessment of pollen production by different male genotypes using hemocytometer

Mohammad Esmaceli¹, Mehdi Sharifani², Hossein Hokmabadi³, Amir Ahmad Dehghani⁴, Benyamin Torabi⁵ and Mahdi Alizadeh⁶

Horticulture^{1,2}, Agronomy⁵, Water Engineering⁴ Department, University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Academic member of Damghan Azad University and Agriculture Organization Tehran³

Corresponding author; mmsharif2@gmail.com

Abstract

In order to examine and compare pollen production among five genotypes of male pistachio this experiment was being set. The experiment was conducted in a frame of RCDB using five replications. Treatments were included of male genotypes of P₁, P₅, P₇, P₁₅ and P₃₄ Hemocytometer was being applied to To identify pollen number (PN) in each fluorescence a per tree. Results showed PN for each gram was 58000000 and per fluorescence 13272000 and for total tree 2736646000 PN recorded. Number of fluorescence per tree was 2062 and mean of pollen weight per fluorescence 237 mg was recorded. The size of pollen in length and in width was 40 and 30 μ respectively. Male genotypes did not show significant differences in pollen production. However, statistical range for male tree genotypes was placed between 3.307 to 4.89 g and for fluorescence was from 186 mg for P₇ to 292 mg for P₃₄. PN per fluorescence was ranged between 10457067 for P₇ to 16363200 for P₃₄.

Keywords: Hemocytometer, Pistachio, Pollen production, Pollen size