تاثیر قارچ کش ها بر مشخصات مور فولوژیکی وآناتومیکی جوانه زنی و رشد لوله گرده بادام در شرایط درون شیشه ای(*in –vitro*)

علی ضرابپور (۱)، علی ایمانی (۲) ،سعید پیری (۳)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد و ۲و ۳- گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابهر، ابهر

بادام یکی از میوه های مهم خشکباری می باشد. اغلب ارقام آن برای تشکیل میوه نیاز به گرده افشانی موفق و به دنبال آن تلقیح مادگی گل دارند. با توجه به دوره کوتاه گرده افشانی موثر و شرایط نامساعد محیطی مانند دمای پایین اول فصل، وجودگرده زنده و با قوه نامیه وقابلیت جوانه زنی خوب ضروری است. در برنامه های اصلاحی لذا آزمون قوه نامیه دانه گرده واطلاع ازکیفیت دانه گرده آن به منظورانتخاب ارقام گرده زا ویژه ای برخوردار است.. از طرفی برخی از بیماری های قارچی بادام،پوسیدگی گل)(blossom blight,) که گل های باز را مورد تهاجم قرار می دهند درتیمار سالیانه با قارچ کش ها درست قبل یا در حین و یا بلافاصله به دنبال گل دهی کنترل می شوند. لذا آزمون قوه نامیه دانه گرده و اطلاع ازکیفیت آن به دنبال سم پاشی با قارچ کش ها ازاهمیت ویژه ای برخوردار است. در همین راستا، آزمایشی برای تاثیر ۸ نوع سموم مختلف قارچ کش بر جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده بادام رقم شاهرود ۱۲ در شرایط درون شیشه ای(*in –vitro*) در جهت بهینه سازی مصرف سموم قارچ کش با توجه به اثرات بد سموم بر سلامتی وبهداشت محیط درمحیط کشت دانه گرده هلو در قالب طرح آماری کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید. نتایج آمایش نشان داد که تفاوت معنی داری بین سموم مختلف وجود دارد. به طوری که بیشترین جوانه زنی در محیط کشت شاهد(فاقد هر نوع سم) و سومی ایت (۱در صد)بوده وکمترین جوانه زنی در محیط کشت حاوی سموم قارچ کش های بیم(۲در صد)، دینوکاپ(۲در هزار)(بوده است.

مقدمه

هلو یکی از میوه های مهم معتدله می باشد که اکثرا"برای تشکیل میوه نیاز به گرده افشانی و به دنبال آن تلقیح مادگی گل دارند. بنابراین، برای تحقق این عمل، گرده زنده و باقوه نامیه و قابلیت جوانه زنی خوب ضروری است. از طرفی برخی از بیماری های قارچی پوسیدگی گل با تیمار سالیانه با قارچ کش ها درست قبل یا در حین و یا بلافاصله به دنبال گل دهی کنترل می شوند (Weiguang *et al*., 2003). در نتیجه زمان کاربرد قارچ کش ها اغلب با گل دهی و گرده افشانی هم پوشانی می شود تحقیقات متعدد روی اثرات نامطلوب کاربرد های سموم شیمیایی روی جوانه زنی و رشد لوله گرده گزارش شده است(Lacerda *et al*., 1994; Pavlik & Jandurova, 2000).به عنوان نمونه جوانه زنی دانه گرده سیب در تیمار با کاپتان در مقایسه با شاهد ۲۰ در صد کاهش یافته است(Y1 *et al*., 2002). لذا آزمون قوه نامیه دانه گرده و اطلاع از کیفیت آن در درختان میوه به ویژه در بادام ازاهمیت ویژه ای برخوردار است. در همین راستا، آزمایشی برای تاثیر ۸ نوع سموم مختلف قارچ کش بر جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده بادام در شرایط درون شیشه ای(*in –vitro*) در جهت بهینه سازی مصرف سموم قارچ کش با توجه به اثرات بد سموم بر سلامتی و بهداشت محیط در محیط کشت دانه گرده بادام انجام گردید.

مواد وروش ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۹ انجام گرفت و برای انجام این کار و به منظور جمع‌آوری دانه گرده، شاخه‌های حاوی غنچه به طول تقریبی ۵۰ سانتیمتر از رقم انتخابی بادام شاهرود ۱۲ تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از قطع چند سانتیمتر از قسمت پایین شاخه‌ها، آنها در ظروف آب مقطر حاوی ۵٪ ساکارز قرار گرفتند.

پس از گذشتت ٢٤ ساعت و زمانی که غنچه‌ها در انتهای مرحله بادکنکی شکل (Ballon stage) قرار داشتند. بساک‌های آنها با استفاده از پنس به آرامی جدا و به مدت ۱۸-۱۲ ساعت بر روی یک برگ کاغذ در دمای اتاق (۲۰ درجه سانتیگراد) قرار داده تا مقداری از رطوبت خود را از دست داده، شکاف بردارند و گرده‌ها آزاد شوند. در ادامه، گرده‌های آزاد شده، جمع‌آوری و در دما ی ٤درجه سانتی گراددر یخچال نگه داری شدند. برای کشت دانه گرده و تعیین تاثیر سموم مختلف قارچ کش بر جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده شاهرود ۱۲در شرایط درون شیشه ای(in –vitro)، دانه گرده بادام شاهرود ۱۲در محیط کشت پایه(۱۵در صد ساکارز و۲ در صد آگار) محتوی غلظت های متفاوت سموم مختلف قارچ کش ودر قالب طرح پایه کامل تصادفی با سه تکرار انجام گردید.برای کشت گرده و تهیه محیط کشت، ابتدا مقدار مشخصی ساکارز به حجم معینی آب مقطر در داخل یک ارلن مایر اضافه شد و بر روی همزن الکتریکی قرار گرفت. پس از آن، به ترتیب اسیدبوریک،نیترات کلسیم،سولفات منیزیم نیترات پتاسیم و آگار مورد نیاز افزوده و محلول حاصل با آب مقطر به حجم مورد نظر رسانده شد.سپس، محیط های کشت آماده شده به مدت ۱۵ دقیقه داخل اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار بخار ۱/۲ بار استریل گردیدند. پس از خروج محیط‌های کشت از اتوکلاو و در حالی که هنوز به صورت ژله‌ای در نیامده در زیر دستگاه لامینار در داخل پتری‌دیش‌های به قطر ۷/۵ و ارتفاع یک سانتیمتر توزیع و تا زمان کشت دانه‌های گرده، در پلاستیک‌های محافظ غذا نگه‌داری شدند.بعد آن دانه های گرده با استفاده از قلم‌مو، به طور یکنواخت بر روی محیط‌های کشت ژله‌ای شده پخش وسپس سموم سومی ایت(۲ در هزار)، کربوکسی تیرام(۲ در هزار)، بیم (۲ در هزار)، دینوکاپ (۲ در هزار)، تیوفانات متیل(۵گرم در۱۰ لیترآب)، اکسی کلرور مس(۳ در هزار)، بنومیل(۱در هزار) و تکتو(۲ در هزار) به وسیله سورنک های مخصوص اسپری شده و و درب پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته شدند. سپس، پتری‌دیش‌ها در انکوباتور در دمای ٢٤ درجه سانتیگراد نگهداری داده شدند.پس از گذشت ۱۲ ساعت، پتری‌دیش‌ها ی حاوی دانه های گرده کشت شده برای تعیین درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده در زیر میکروسکوپ نوری مورد مشاهده قرار داده شدند. پس مشاهده و یاد داشت برداری، درصد جوانه‌زنی دانه های گرده محاسبه گردید به این ترتیب بود که در هر پتری‌دیش ۳ میدان دید (**Scop**) بطور تصادفی انتخاب و تعداد گرده‌های جوانه زده و تعداد کل دانه‌های گرده آن میدان دید، شمارش و نسبت بین آنها به درصد تعیین گردید. معیار جوانه‌زنی حالتی بود که طول لوله گرده حداقل برابر با قطر دانه گرده می رسید. داده های حاصل از آزمایش در قالب طرح آماری کامل تصادفی با سه تکرار با استفاده ازتجزیه آماری نرم افزار **SPSS** و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن (**Duncan**) انجام شد.

نتایج وبحث

نتایج حاصل از مقایسه میانگین تاثیر ۸ نوع سم قارچ کش در محیط کشت برجوانه زنی بادام شاهرود۱۲ در جداول۱رائه شده است .

جدول۱.مقایسه میانگین تاثیر قارچ کش های مختلف بر مشخصات مور فولوژیکی وآناتومیکی جوانه زنی و رشد لوله گرده بادام در شرایط درون شیشه ای(*in –vitro*)

نام سم	غلظت	جوانه زنی دانه گرده(٪)	مشخصات مور فولوژیکی وآناتومیکی
شاهد	**آب مقطر**	a١٠٠	لوله گرده قوی، بلند کشیده و شفاف
سومی ایت	۲ در هزار	c٤٥	دارای لوله گرده بلند و دانه گرده نیمه شفاف
سومی ایت	۱ در هزار	a٨٥	لوله گرده بلند و کشیده و دانه گرده شفاف
اکسی کلرور	۱/۵ در هزارر	d٢٠	لوله گرده کوتاه و ضعیف
اکسی کلرور	۳ در هزار	e١٢	دانه گرده تیره، لوله گرده کوتاه تا متوسط
دینوکاپ	۱ در هزار	f٠	فاقد لوله گرده و دانه گرده سیاه رنگ
دینوکاپ	۲ در هزار	f٠	فاقد لوله گرده و دانه گرده سیاه رنگ
تیوفانات متیل	۵گرم در۱۰ لیترآب	a٧٥	لوله گرده بلند، ضعیف، متوسط
تیوفانات متیل	۱۰گرم در۱۰ لیترآب	b٦٢	دانه گرده سیاه، طول لوله گرده از متوسط تابلند
کربوکسی تیرام	۱ در هزار	e١٠	دانه گرده تیره لوله گرده ضعیف و کوتاه
کربوکسی تیرام	۲ در هزار	f٠	دانه گرده تیره لوله گرده ضعیف و کوتاه
بیم	یک در هزار	f٠	دانه گرده سیاه رنگ و فاقد لوله گرده
	بیم ۲ در هزار	f	دانه گرده سیاه رنگ و فاقد لوله گرده
بنومیل	۱ در هزار	e١٠	دانه گرده غیر نرمال طول لوله گرده کوتاه و ضعیف
بنومیل	۰/۵ در هزار	d٢٠	طول لوله گرده بلند ولی ضعیف
تکتو	۱ در هزار	d٢٢	لوله گرده بلند ولی ضعیف
تکتو	۲ در هزار	e١٠	لوله گرده بلند ولی ضعیف

در این آزمایش مشخص گردید دانه گرده شاهرود ۱۲کمترین ترین جوانه زنی را درمحیط های کشت به ترتیب حاوی سموم قارچ کش در مقایسه با محیط های کشت فاقدسموم داشت(جدول۱). چون طبق گزارش ها وجود سموم قارچ کش در محیط کشت برای گسترش رشد لوله گرده بازدارنده می باشد(Marcucci and Filiti, 1984).

از طرفی درنتایج حاصل از پژوهش حاضر مشخص گردیدکه درصد جوانه‌زنی در محیط‌های کشت مثلاً حاوی سم دینوکاپ در مقایسه تیوفانات متیل به طور موثر بازدارنده بود. چون طبق گزارشی پاولیک و جاندوراوا (Pavlik and Jandurava, 2000) اگرسموم با غلظت مناسب بکار برده شود می تواند نقش مهمی در جوانه‌زنی گرده و به دنبال آن تشکیل میوه بازی کند ولی اگر با غلظت مطلوب مصرف نشود اثرات متفاوت وگاهی بازدارنده به دلیل ایجاد سمیت بروز می دهدکه این حالت در بررسی جوانه‌زنی گرده برخی ارقام و گونه‌ها گزارش شده است (Marcucci & Filiti, 1984; Redalen, 1980).

در پژوهش حاضرطول لوله گرده در برخی محیط های کشت جوانه زنی حاوی سموم مختلف در مقایسه با برخی محیط های کشت بیشتر بود ، همچنین رشد محدود ویا جوانه زنی کمتر دانه گرده هلو و شلیل در برخی محیط های کشت جوانه زنی در مقایسه با برخی محیط های کشت دیگر متفاوت بود دلیل آن ممکن است اثر بازدارنگی تاثیر غلظت زیاد و یا آنتاگونیسمی جذب

مواد غذایی(nutrient uptake) توسط دانه گرده بوده باشد. به علاوه گاهی حالت رشد غیر طبیعی دانه های گرده در برخی محیط های کشت مشاهد شده که همچو حالت را فیربانک وهمکاران(Fairbanks *et al*., 1996) گزارش نمودند. در این آزمایش جوانه زنی ورشد لوله گرده در محیط های کشت حاوی ترکیبات مختلف سموم مشخص گردید که اثرات بازدارنگی روی جوانه زنی گرده در برخی محیط های کشت چشمگیر بودکه نتایج مشابهی نیز درگزارش واتر واستورجیون(Matthews et al, 1958) اشاره شده است. امید می رود نتایج حاصل از این تحقیق مورد استفاده در مدیریت گرده افشانی و برنامه های کنترل بیماری ها مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

ایمانی ،ع.١٣٨٣ بیولوژی گلدهی درختان میوه . انتشارات وزارت جهاد کشاورزی. ٦٧٠صفحه

Fairbanks, M.M., G.E.S.J. Hardy and J.A. McComb. 2002. Effect of the fungicides phosphite on pollen fertility of perennial species of the *Eucalyptus marginata* forest and northern sandplains of Western Australia. *Aust. J. of Bot.*, 50(6): 769-780.

Lacerda, C.A., J.O.G. Lima, E.C. Almeida and L.M. Oliveria. 1994. Pesticides *in vitro* interference in the germination and in the tube pollinic germination and elongation in the tomato plant cultivar santa cruz cada. Pesq. agropec. bras., *Brasilia*, 29: 1651-1656.

Marcucci, M.C. and N. Filiti. 1984. Germination of pear and apple pollen as influenced by fungicides. *Gartenbauwiss ecschaft*, 49: 28-32.

Matthews, F. R.; McLintock, T. F. 1958Effects of fungicides on pollen germination of slash and longleaf pine. Res. Note 122. Asheville, NC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southeastern Forest Experiment Station;. 2 p.

Pavlik, M. and O.M. Jandurova. 2000. Fungicides cytotoxicity expressed in male gametophyte development in *Brassica campestris* after *in vitro* application of converted field doses.*Environ. Exp. Bot.*, 44: 49-58.

Redalen, G. 1980. Effect of fungicides on pollen germination and fruit set in raspberries.*Gartenbauwiss enschsaft*, 45: 248-251.

Yı, W., S.E. Law and H.Y. Wetzstein. 2002. Fungicide sprays can injure the stigmatic surface during receptivity in almond flowers. *Annals of Bot.*, 91: 1-7.

Yı, W., S.E. Law and H.Y. Wetzstein. 2003. Pollen tube growth in styles of apple and almond flowers after spraying with pesticides. *J. of Hortic. Sci. and Biotec.*, 78(6): 842-846.

Wodehouse, R.P. 1965. *Pollen Grains*. Hamer Press, New York. 249 pp.

Fairbanks, M.M., G.E.S.J. Hardy and J.A. McComb. 2002. Effect of the fungicides phosphite on pollen fertility of perennial species of the *Eucalyptus marginata* forest and northern sandplains of Western Australia. *Aust. J. of Bot.*, 50(6): 769-780.

Weiguang,YI,Lays E.,Weizsttein Haze I Y.2003.An in vitro study of fungicide effects on pollen germination and tube growth in almond American Society for Horticultural Science. 38:1086-1088

Effects of fungicide on morphological and anatomical pollen tube growth and germination characteristic of almond in vitro

Abstract

Eight fungicides at commercially recommended concentrations and at double concentrations were evaluated for their effects on pollen germination of almond cultivar (shahroud12). All fungicides reduced the percentage of pollen germination and length of germ-tube elongation. The negative effects fungicides on pollen germination percentage and germ-tube elongation were variable and dependent on type and material concentration.

Kay word: germination, peach, culture pollen, fungicide