بیولوژی و فیزیولوژی تولید مثل جنسی در بنه*
(*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*)

یحیی دهقانی شورکی[1]

چکیده

پسته وحشی یا بنه (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) یکی از گیاهان بومی ایران است که اهمیت زیادی در پوشش گیاهی رشته کوه زاگرس دارد. صفات مورد مطالعه گلها و میوه‌های در حال رشد شامل زمان ظهور کیسه جنینی، آندوسپرم، جنین در مراحل مختلف رشد تا هفته شانزدهم، وجود لوله گرده و آثار آن در هفته اول پس از لقاح مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌هایی که برای مطالعه لوله گرده تا آخر هفته اول جمع‌آوری شدند، در محلول Carnoy's تثبیت شدند. آن دسته از نمونه‌هایی که برای مطالعه کیسه جنینی، جنین و آندوسپرم برداشت شدند با محلول تثبیت کننده FAA تثبیت و بعد در الکل اتیلیک ۷۵٪ و در یخچال نگهداری شدند. در این روش برای مطالعه تندش و رشد لوله گرده در بافت گل ماده از ماده رنگی آنیلین بلو با نور فرابنفش (UV) استفاده شد. همچنین نمونه‌هایی به منظور مطالعه بافتهای تخمدان، تخمک و اندامهای اصلی گل (کلاله و خامه) و نیز چگونگی حرکت لوله گرده در آنها جمع‌آوری و تثبیت شدند. بعد از آنها برشهای ۳–۷ میکرونی تهیه و با مواد رنگی تولوئیدین بلواُ (TBO) و پریدیک اسید و اسید شیفس رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. داده‌های جمع‌آوری شده پس از تبدیل با استفاده از برنامه آماری Nested تجزیه شد و رسم گرافها با استفاده از برنامه Excel انجام شد.

با توجه به اهداف اصلی طرح مبنی بر انتخاب محل مناسب کاشت بنه به منظور بهره‌وری بهینه از این گیاه و نوع و میزان مشکلاتی که بر سر راه رشد و نمو میوه بنه وجود دارد، نتایج حاصل گویای بهترین باردهی در عرصه‌های جنوبی و کف دره‌ها و بهترین استقرار در شیبهای شمالی و کف دره‌ها است. همچنین مشکلاتی که رشد و نمو میوه بنه را به مخاطره می‌اندازند بیشتر در مراحل اولیه رشد و نمو جنین ظاهر می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: بنه، گرده‌افشانی، رشد لوله گرده، کیسه جنینی، آندوسپرم، جنین اولیه، تکامل جنین

تاریخ دریافت: ۸۳/٤/۹ تاریخ پذیرش: ۸۳/۷/۱٤

* این مقاله از طرح پژوهشی شمارهٔ ۰۷۹٤–۹۰۸–۹۰–۱۰۱–۰۳–۷٦ مصوب مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع استخراج شده است.

۱– عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. E-mail: Shuraki@yahoo.com

مقدمه

بنه با نامهای بومی پسته وحشی، ون، سقز و چاتلانقوش، درختی دوپایه، سازگار با آب و هوای خشک، مناسب زمینهای سبک و سنگلاخی و به‌شدت نورپسند است که به همین دلیل بیشتر در شیبهای جنوبی دیده می‌شود. ارتفاع این درخت ۲ تا ۷ متر است و در بعضی از منابع ارتفاع آن۱۰ تا ۱۲ متر نیز ذکر شده است (ابریشمی، ۱۳۷۳).

جوانه گل بنه بر روی شاخه‌های یکساله تشکیل می‌شود و در سال دوم یعنی بر روی شاخه‌های دو ساله به بار می‌نشیند. شروع دوره تمایزیابی جوانه‌های گل در بنه از اوایل اردیبهشت است. فصل باز شدن گل نسبت به فصل تمایزیابی جوانه‌ها، دیرتر و در بهار سال بعد است. کیسه جنینی بنه از نوع پلی‌گنوم[1] (۸ هسته‌ای) است. فرایند تکامل آن بدین صورت است که یک سلول با شکل بارز و مشخص در قسمت وسط بافت خورش، در موقعیتی به طرف بن (شالاز)، شروع به رشد می‌کند و این در زمانی است که بافت نوسل کامل شده باشد (در اوایل بهار و قبل از باز شدن کامل خوشه گل ماده).

به نظر می‌رسد که بنه همچون پسته خوراکی دارای سازوکار خاصی برای تناوب باردهی است. در این نوع تناوب، سالی که درخت محصول فراوان تولید می‌کند، جوانه‌های گل موجود که در سال بعد به میوه تبدیل خواهند شد، در طول تابستان ریزش می‌کنند. این ریزش با توجه به میزان باردهی و شرایط محیطی و نیز ویژگیهای ژنتیکی هر ژنوتیپ بارور، تا حدی متغیر است که به تناوب متفاوت باردهی بنه منجر می‌گردد. تناوب باردهی بنه با گرده‌افشانی ارتباط زیادی ندارد، ولی گرده‌افشانی با باردهی ارتباط مستقیمی دارد (Shuraki and Sedgley, 1997).

۱- تیره علف هفت بند (Polygonaceae)، مشخصه این خانواده وجود گونه‌های با کیسه جنینی ۸ هسته‌ای است.

گرده‌افشانی بنه به علت دو پایه بودن این گیاه به صورت غیر خودی انجام می‌شود و به‌عبارتی بنه گیاهی کاملاً دگرگشن است. از این رو گرده توسط عوامل خارجی از گل نر به سطح کلاله گل ماده حمل می‌شود. گلهای نر و ماده بنه به هیچ‌گونه ابزار تشویق حشرات گرده‌افشان مجهز نیستند. برخی از زنبورهای گرده‌خوار و تا حدی زنبور عسل و تعدادی از سوسکهای گرده خوار، گرده بنه را به منظور تغذیه جمع‌آوری می‌کنند. حشرات گرده‌خوار در گرده‌افشانی گلهای ماده هیچ نقشی ندارند و اگر جمعیت آنها زیاد باشد بر اثر جمع‌آوری زیاد گرده ممکن است در روند گرده‌افشانی اخلال نیز ایجاد کنند. از طرف دیگر ویژگی ساختمانی و فرم و نیز چگالی گرده بنه و شکل شماره و ویژگی سطح آن، آنرا برای حمل توسط باد مناسب ساخته است. در مقابل ساختمان سطح کلاله بنه همچون پسته خوراکی چنان تعبیه شده است که گرده‌های سوار بر باد به‌راحتی جذب آن می‌شوند(Heslop-Harrison and Shivanna, 1977). نظر به اینکه در طبیعت کمبود پایه‌های نر بنه مشاهده نمی‌شود روش انتقال گرده به گلهای ماده بسیار طبیعی است. از این رو بیشترین درصد پوکی بنه به ناسازگاری بین والدین و شرایط محیط نسبت داده می‌شود.

مواد و روشها

این آزمایش در پارک جنگلی و حفاظت شده خجیر واقع در شرق تهران انجام شد. برای کم کردن اثرات جانبی محل، چهار اصله درخت تقریباً هم سن سالم در شیبهای شمالی، جنوبی، کف دره و روی یال بین دو دره انتخاب شدند. در فروردین ماه سال ۷۸ و ۷۹، در زمان رسیدن گل، تعدادی خوشه گل ماده که هرکدام حدود۳۰۰ گل ماده داشتند و همزمانی رسیدن خوشه‌ها تقریباً مشابه بود، انتخاب و در معرض گرده‌افشانی قرار گرفتند. گلهای زودرس و دیررس خوشه‌های انتخاب شده حذف شدند. همین عمل بر روی جوانه‌های خیلی زودرس و خیلی دیررس نیز قبل از باز شدن صورت

گرفته بود تا خوشه‌های گل مورد مطالعه تا حد امکان یکنواخت باشند. از گلهای تازه تلقیح شده و یا به عبارتی میوه‌های تازه تشکیل شده در ایام مقرر ساعت ۱۰ تا ۱۲ صبح، به صورت هفتگی، نمونه‌برداری و به منظور مطالعه بر همکنش[1] والدین در باروری و تغییرات کیسه جنین و جنین اولیه و همچنین آندوسپرم به دو روش تثبیت شدند. برای مطالعه اثرات بر همکنش والدین در محیط طبیعی نیز به تعداد چهار خوشه در جهات مختلف هر درخت مورد نظر انتخاب شد و پس از نشانه‌گذاری در زمان بلوغ میوه‌های باقی مانده آنها برداشت و مطالعه شد.

همان طور که ذکر شد این آزمایش در پارک جنگلی خجیر در مجاورت رودخانه جاجرود در سال ۱۳۷٦ شروع شد و در سال ۱۳۸۱ به پایان رسید. اگرچه تراکم پایه‌های بنه در این پارک متنوع و اغلب در دره‌ها متراکم‌تر بود، ولی پراکندگی آن در عرصه در حد مناسب و در تمام قسمتهای پارک مشاهده می‌شد. موقعیت جغرافیایی محل آزمایش در۳۰ درجه و ۵۲ دقیقه شمالی و ٦۵ درجه و ۳۵ دقیقه غربی واقع در کوهپایه‌های جنوبی زاگرس در ۲۵ کیلومتری شرق تهران است.

داده‌های آماری در قالب آزمون نستد (آشیانه‌ای) تجزیه شد که در آن B تیمار مکان درختان نمونه‌برداری می‌باشد (چون این تیمارها وضعیتی کاملاً مشابه ندارند و قابل تکرار هم نیستند)، در A (زمان نمونه‌برداری) نستد شده است B (A).

صفات مورد مطالعه در گلها و میوه‌های در حال رشد عبارت بودند از: وجود کیسه جنینی،وجود آندوسپرمی، وجود جنین در مراحل مختلف رشد تا هفته شانزدهم، وجود لوله گرده تا هفته شانزدهم (اگرچه ظهور لوله گرده در همان روزهای اول تلقیح گل باارزش است، ولی مطالعه آن در مراحل دیگر تا حد زیادی انجام گرده‌افشانی موفق یا

1- Interaction

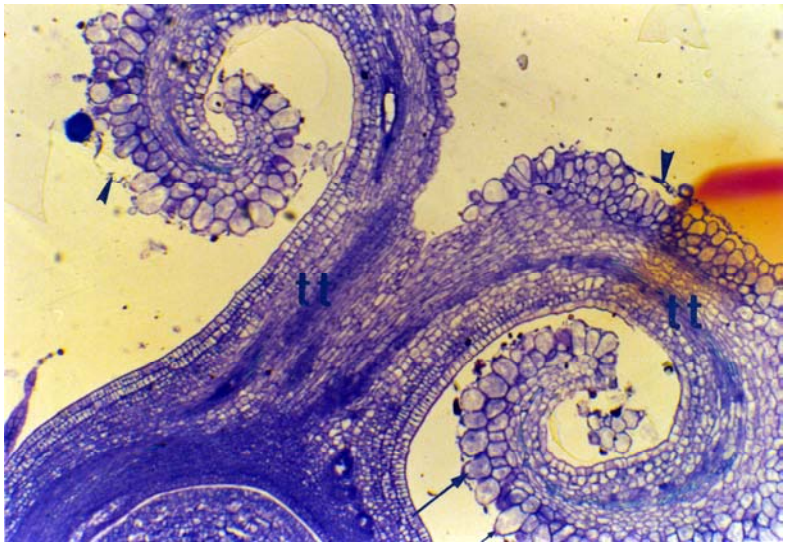
ناموفق را بیان می‌کند)، وجود هر نوع فساد در تخمدان و یا تخمک در مراحل مختلف رشد تا هفته شانزدهم.

به‌طورکلی نمونه‌های برداشت شده در طول ۱۶ هفته به دو گروه تقسیم شدند. نمونه‌هایی که برای مطالعه لوله گرده تا آخر هفته اول جمع‌آوری شد با روش Carnoy's تثبیت و آماده شدند.

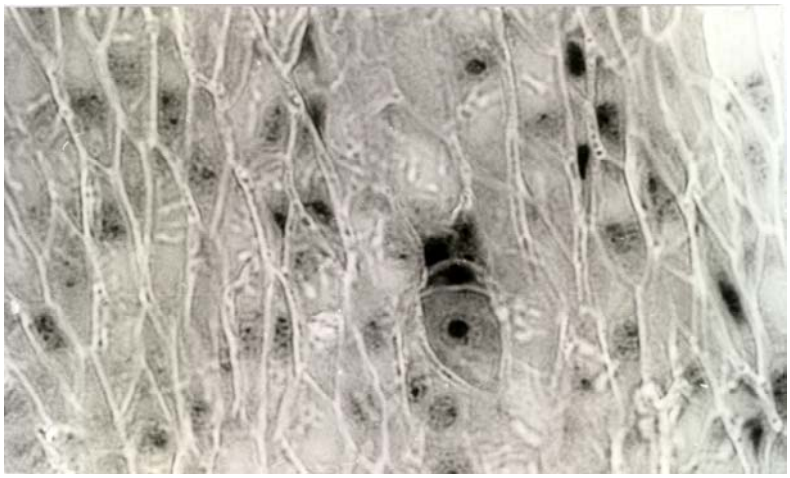
نمونه‌هایی که برای مطالعه کیسه جنینی، جنین، آندوسپرم و نیز وجود لوله گرده در بافتهای تخمدان از هفته دوم تا شانزدهم برداشت شد با روشهای FAA، FPA۵۰ و گلوتارآلدهید تثبیت شدند. نمونه‌های تثبیت شده تا زمان کار با آنها در الکل اتیلیک ۷۵٪ در یخچال نگهداری شدند. آماده‌ساختن نمونه‌ها به منظور مطالعه اثرات والدین سازگار و ناسازگار از راه مطالعه لوله گرده در اندام ماده صورت گرفت که روش کار به شرح زیر است:

نمونه‌های برداشت شده بلافاصله در لوله‌های شیشه‌ای در دار که روی یخ قرار داشتند ریخته شد و بعد ماده تثبیت کننده کارنویز (Carnoy's fluid) به اندازه حداقل ۳-۵ برابر حجم نمونه روی آن ریخته شد و دوباره شیشه‌ها روی یخ نگهداری شدند، (نگهداری نمونه‌ها در دمای محیط و یا در جای گرم و یا در معرض نور مستقیم آفتاب باعث می‌شود تا آب نمونه‌ها به سرعت کشیده شود و سلولهای ظریف گل به سرعت از بین بروند و آثار نامطلوبی بر نتایج مطالعه بگذارند).

در روش مطالعه لوله گرده در بافت گل ماده باید از مواد رنگی که در نور UV (نور فرابنفش) تولید نور مرئی می‌کنند، استفاده کرد. در حال حاضر مواد متنوعی برای این منظور وجود دارد و در این آزمایش از ماده رنگی آنیلین بلو استفاده شد.



شکل شمارهٔ ۱- برش عرضی گل ماده بنه. در این شکل مسیر عبور لوله گرده (Transmitting tissue) (tt) در یک گل بالغ دیده می‌شود و سلولهای پاپیلی سطح کلاله بالغ (نوک پیکان) و ترشحات سطح کلاله (پیکان) کاملاً مشهود است (۱۷۸ ×).



شکل شمارهٔ ۲- تقسیم میتوزی سلول مادر مگاسپور که تولید ٤ سلول کرده و فقط یک سلول آن سالم و در حال رشد است و بقیه در حال از بین رفتن هستند (۳۰۰ ×).

نتایج

- مطالعه گرده‌افشانی و لقاح در بنه

گل نر اغلب پایه‌های گرده‌افشان بنه حدود ۱۰ تا ۱۵ روز زودتر از گلهای ماده بالغ شدند. این گروه درعمل در روند گرده‌افشانی پایه‌های مورد نظر نقشی نداشتند، ولی همیشه تعدادی از ژنوتیپهای نر، دیرتر و در زمانی گرده پراکنی کردند که گلهای ماده مورد نظر باز شده و آماده لقاح بودند. از طرف دیگر تعدادی از خوشه‌های گل پایه‌های نر زود گرده‌افشان نیز دیر بالغ شدند که ممکن است به موقعیت نامناسب آنها در درخت ارتباط داشته باشد. برای مثال اغلب در سایه درون تاج واقع شده بودند که ممکن است درجه حرارت پایین‌تر و عدم نور مستقیم خورشید موجب این پدیده شده باشد (میزان باروری گرده این نوع گلها آزمایش نشد). این گروه از خوشه‌های دیررس نیز احتمالاً در گرده‌افشانی پایه‌های ماده دخالت داشتند. به‌طور کلی، گلهای زودرس یک خوشه گل ماده، زودتر و به تعداد بیشتر بارور شده و اغلب به میوه تبدیل شدند. گلهای بخشهای پایین خوشه‌ها و خوشه‌چه‌ها بیشتر عقیم بودند و زود ریزش کردند. از این رو بیشتر خوشه‌های میوه بنه قبل از رسیدن به سن بلوغ به‌شدت تنک شدند. کلاله سه قسمتی گلهای سالم، وقتی رسیده بود که شفاف و دارای ترشحات مغذی و محرک رشد لوله گرده بود و رنگ سطح کلاله ارغوانی تا صورتی کم‌رنگ بود.

- تکامل اندامهای زایشی گلهای ماده بنه

- تکامل گل ماده

تقریباً روند تکامل گلهای ماده بنه مشابه گلهای گونه پسته خوراکی است. کلاله گل بنه همانند پسته خوراکی سه قسمتی است که یک بخش آن بزرگتر است و نقش فعالتری در باروری و لقاح گل دارد و بافت حامل لوله گرده (Transmitting tissue) در بافت کلاله کاملاً مشهود است (شکل شمارهٔ ۱). سطح کلاله در گل ماده بنه نیمه خشک

است و در هنگام بلوغ به‌وسیله ترشحات مغذی که از بین سلولهای کشیده و مستطیلی بافت سطح کلاله خارج می‌شوند، پوشیده شده است. خامه گل ضخیم و کوتاه است و به دیواره ضخیم تخمدان منتهی می‌گردد. کانالهای صمغ در همه قسمتهای گل به صورت موازی و همراه با آوندها مشاهده می‌شود (شکل شمارهٔ ۱).

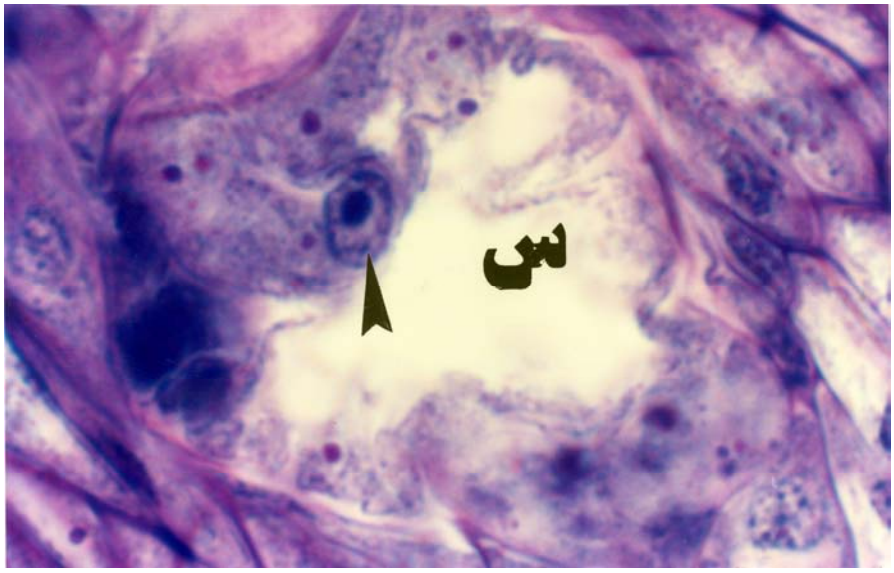
تخمدان بنه یک حفره‌ای است و حاوی یک تخمک واژگون است. تخمک به وسیله فونیکول بلند و ضخیم به کف حفره تخمدان چسبیده و در انتها به یک توده بزرگ بافت خورش (نوسل) متصل است. کانالهای صمغ در هیچ‌یک از بافتهای تخمک مشاهده نشد.

- تکامل کیسه جنینی

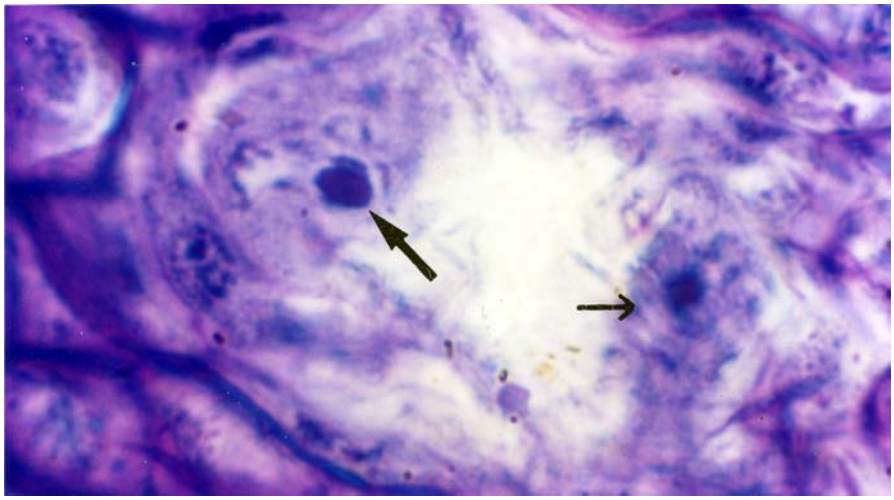
کیسه‌جنینی بنه از نوع پلی‌گنوم[1] (۸ هسته‌ای) است و فرایند تکامل آن بدین صورت است که سلولی با شکل بارز و مشخص در قسمت وسط بافت خورش، در موقعیتی به طرف بن (شالاز)، شروع به رشد می‌کند و این در زمانی است که بافت نوسل کامل شده باشد (در اوایل بهار و قبل از باز شدن کامل خوشه گل ماده). رشد این تک سلول بیش از حد معمول رشد سلولهای اطراف آن است، به طوری که در عرض کمتر از یک هفته از شروع تمایز، ابعاد آن از ابعاد سلولهای اطراف آن کاملاً بزرگتر می‌شود. در این حالت به این سلول، سلول مادر کیسه جنینی (megaspore mother cell = MMC) گفته می‌شود. سلول مادر کیسه جنینی پس از یک دوره کوتاه استراحت دو بار به روش میتوز تقسیم می‌شود و چهار سلول تولید می‌شود که در یک راستا قرار دارند. سه عدد از سلولها از بین رفته و انتهایی‌ترین آنها که به سمت سفت (میکروپیل) قرار دارد، زنده، می‌ماند (شکل شمارهٔ ۲). سیتوپلاسم سلول باقیمانده مرتب رشد می‌کند تا اینکه به یک سلول غول پیکر و یا به عبارتی به یک کیسه جنینی یک سلولی یک هسته‌ای تبدیل

1- Polygonum

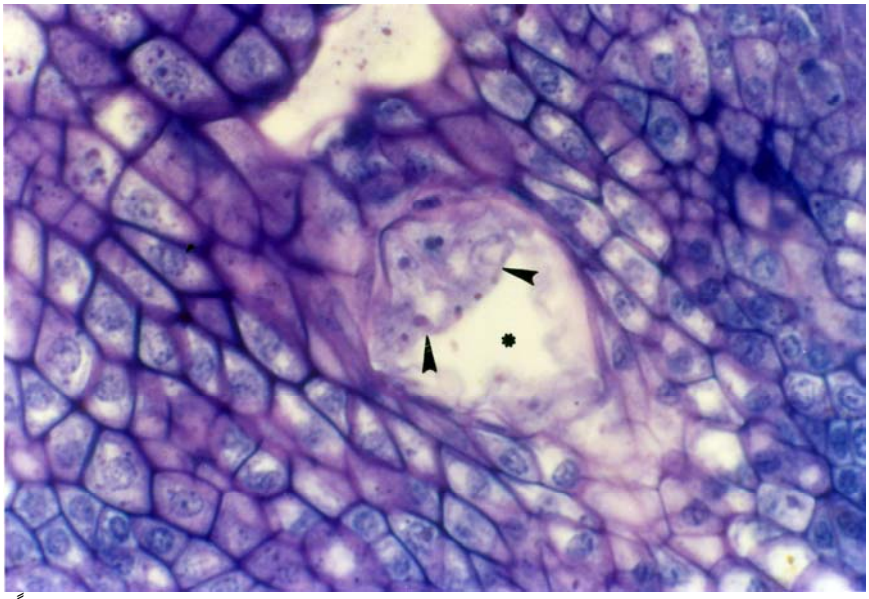
می‌شود (شکل شمارهٔ ۳). کیسه جنین یک سلولی با تقسیم میوز به ترتیب به کیسه جنینی ۲، ٤ و ۸ هسته‌ای تبدیل می‌شود. شکل شمارهٔ ٤، یک کیسه جنین دو هسته‌ای را نشان می‌دهد. هسته‌های داخل کیسه جنین به طرز خاصی آرایش می‌یابند و با توجه به موقعیت هر کدام وظیفه آنها نیز تغییر می‌کند. سه هسته در قسمت پایین کیسه قرار می‌گیرند و سلولهای متقاطر (Antipodals) را به‌وجود می‌آورند. تعداد این هسته‌ها که در گیاهان مختلف به‌شدت متغیر است، به عنوان کیسه‌های ذخیره کننده مواد غذایی برای رشد جنین اولیه عمل می‌کنند. سه هسته نیز در انتهای دیگر کیسه جنینی درست در مقابل متقاطرها مستقر می‌شوند که تشکیل سه سلول درشت می‌دهند و تقریباً یک هرم مثلث القاعده متساوی‌الاضلاع را به وجود می‌آورند. در این مجموعه یک سلول دارای جثه بزرگتر است و نقش سلول تخمزا را بازی می‌کند و دو سلول دیگر که در طرفین سلول تخمزا واقع می‌شوند، به قرینه‌ها (synergids) معروفند. سلول تخمزا اغلب پشت سلولهای سینرجید قرار می‌گیرد. یکی از سلولهای قرینه نقش معبر یا محل استقرار انتهای لوله گرده را بازی می‌کند (شکل شمارهٔ ۵). بدین‌صورت که قبل از رسیدن لوله گرده به آن می‌میرد و سلول دیگر تا مدتی در کنار جنین اولیه زنده می‌ماند و سرانجام از بین می‌رود.



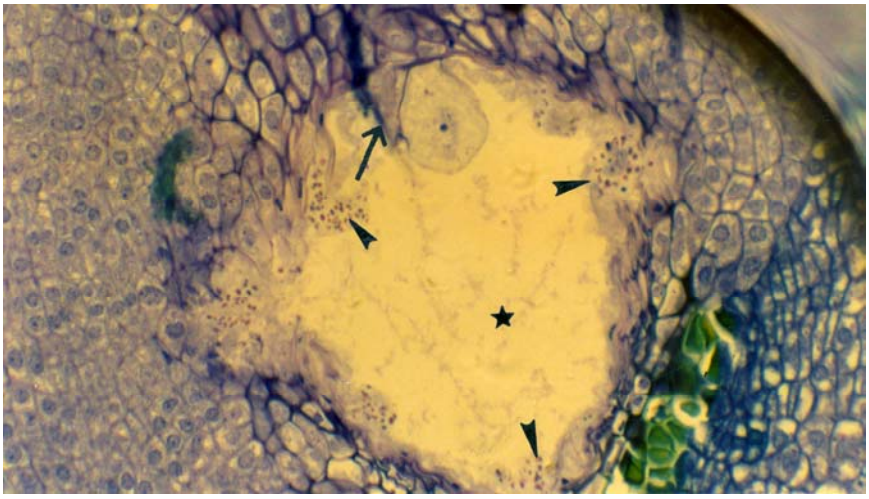
شکل شمارهٔ ۳- کیسه جنین تک سلولی بالغ پسته وحشی (س) با سیتوپلاسم زیاد و هسته درشت (نوک پیکان) که در یک قطب کیسه‌جنینی دیده می‌شود. دانه‌های نشاسته اطراف هسته مشاهده می‌شود (۳٤۰ ×).



شکل شمارهٔ ٤- این شکل کیسه جنینی دو هسته‌ای را نشان می‌دهد که هسته‌ها کاملاً مشخص هستند (پیکان) (۲۳۵ ×)



شکل شمارهٔ ۵- کیسه جنینی کامل (*) را با دو سلول سینرجید (نوک پیکان) کاملاً مشخص دیده می‌شوند (۱۲۵ ×).



شکل شمارهٔ ٦- در این شکل کیسه جنینی حاوی جنین تک سلولی (★)، سلول سینرجید معبر در حال مرگ (پیکان) و هسته‌های آندوسپرم حاوی دانه‌های نشاسته (نوک پیکان) مشاهده می‌شوند (۱۳٤ ×)

در شکل شمارهٔ ٦ جنین تک سلولی همراه با یک سلول مرده سینرجید و تعدادی هسته آندوسپرم که دانه‌های نشاسته اطراف آنها را احاطه کرده، مشاهده می‌شود. در انتهای میکروپیلی سلولهای سینرجید بافت ویژه‌ای به نام بافت نخ مانند (filiform apparatus) قرار دارند که محل ورود لوله گرده به سلول معبر است. دو تا از هسته‌های باقی مانده در وسط کیسه جنین تشکیل سلول مرکزی می‌دهند که پس از گرده‌افشانی و قبل از لقاح کامل با هم ترکیب می‌شوند و هسته درشتی را بوجود می‌آورند که سرانجام به سلول درشت مرکزی تبدیل می‌شوند. سلول مرکزی با یکی از اسپرمهای لوله گرده ترکیب می‌شود و تولید بافت ۳n کروموزمی آندوسپرم می‌کند. آندوسپرم تک سلولی در شکل شماره۸ مشاهده می‌شود. سلولهای آندوسپرم مرتب تکثیر می‌شوند و بافت ذخیره‌ای آندوسپرم را به وجود می‌آورند. در سلولهای آندوسپرم یک تا سه هسته مشاهده شد که دارای دیواره سلولی نازک مشترک بودند، البته نمی‌توان گفت که سلولهای آندوسپرم چند هسته‌ای است.

- عمل لقاح و تشکیل جنین اولیه

در بنه دوره گرده‌افشانی مناسب و فعال حدود ٤٨ ساعت قبل از زمان ظهور اولین بخش از کلاله گل است که در این هنگام رنگ سطح کلاله صورتی تا قرمز و براق است. شفاف بودن سطح کلاله حاکی از وجود مقداری ماده مغذی و محرک است که از بافت سطحی کلاله به منظور جوانه زدن دانه گرده و رشد و نمو لوله گرده ترشح می‌شود (شکل شمارهٔ ۲). کمتر از ٤٨ ساعت پس از استقرار دانه گرده بر روی سطح کلاله بنه، لوله گرده به کیسه جنینی رسیده و سلولهای تخمزا و مرکزی را بارور می‌کند. مسیر نفوذ لوله گرده بسیار شبیه مسیر نفوذ لوله گرده در بافتهای اندام ماده در پسته خوراکی است. بدین صورت که لوله گرده به داخل بافت بسیار فعال سطح کلاله و از کنار برجستگیهای چند سلولی (papilla) و یا سلولهای پستانکی (papillar cells) آن،

به داخل بافت کلاله نفوذ می‌کند (شکل شمارهٔ ۲). بعد به داخل بافت هادی لوله گرده (transmitting tissue) در کلاله و خامه نفوذ کرده و به پایین‌ترین قسمت خامه می‌رسد. این بافت در کنار آوندها مستقر است و دارای سلولهای کشیده است (شکل شمارهٔ ۱). در اینجا لوله گرده یکی از ۳ معبر زیر را برای نفوذ به داخل تخمدان و تخمک انتخاب می‌کند:

۱- اغلب لوله‌ها از فضای خالی بین دیواره داخلی تخمدان و بافت پوششی فونیکول می‌گذرند تا به داخل بافت فونیکول نفوذ کنند (شکل شمارهٔ ۹). تنها مشکل شمارهاین مسیر تخریب بافت فونیکول در محل نفوذ لوله گرده است که گاهی موجب عقیمی تخمک هم می‌شود.

۲- نفوذ لوله گرده از طریق پلی که بین سطح داخلی دیواره تخمدان و فونیکول که از پیشروی بافت فونیکول به طرف دیواره فوق ایجاد می‌شود (شکل شمارهٔ۱۰).

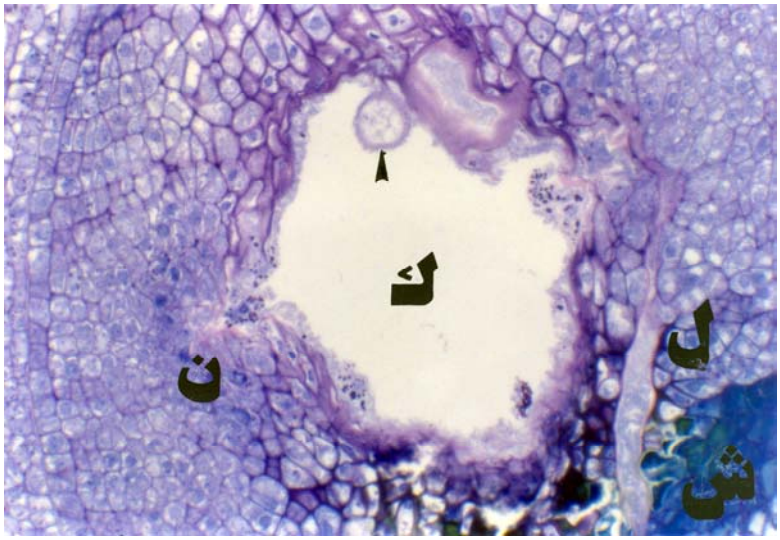
۳-یکی از طولانی‌ترین مسیرهای نفوذ لوله گرده به داخل بافت فونیکول، مسیر دیواره تخمدان است که به علت طولانی بودن مسیر اغلب لوله‌های گرده در زمان مناسب به تخمدان نمی‌رسند و باروری صورت نمی‌گیرد. در هر گل ممکن است تعدادی لوله گرده از هر کدام از این مسیرها عبور کنند، ولی همه آنها باید از بافت شالاز (بن) و خورش (نوسل) عبور کرده، از مسیر اصلی نفوذ لوله گرده (سفت)، به سینرجید معبر وارد شوند (شکل شمارهٔ ۹). به هر حال، فعالترین لوله گرده‌ای که بتواند به موقع به سینرجید برسد توان باروری کامل سلولهای زایای کیسه جنینی را دارد و بقیه لوله‌های گرده در طول مسیر از بین می‌روند. به محض ورود لوله گرده به سلول معبر سینرجیدی و رها شدن اسپرم‌ها، هر دو اسپرم به کیسه جنینی وارد می‌شوند (معمولاً با حرکت آمیبی) که یکی از آنها با سلول تخمزا ترکیب می‌شود و یک جنین تک سلولی به وجود می‌آورد. در این حال سینرجید معبر که بافت مرده است به آن جنین چسبیده است (شکل شمارهٔ ٦). جنین تک سلولی پس از یک دوره استراحت

شروع به رشد می‌کند و بعد تقسیم شده و تا مرحله کروی کوچک پیش می‌رود. در این زمان رشد دیواره میوه شروع می‌شود که موجب می‌شود تا رشد جنین برای چند هفته راکد شود. اسپرم دومی با هسته قطبی (سلول مرکزی) ترکیب شده و تولید هسته اولیه بافت 3n کروموزمی آندوسپرم می‌کند.

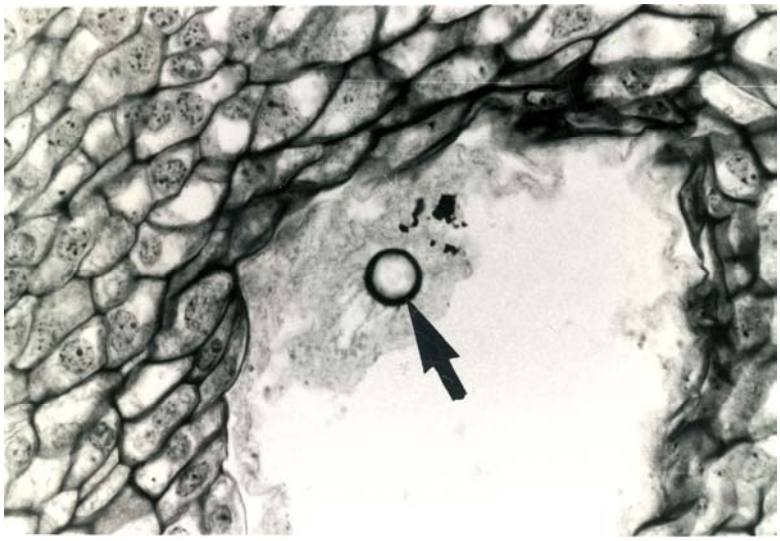
هسته اولیه آندوسپرم کروی و خیلی بزرگ است. اطراف هسته اولیه آندوسپرم را مقدار قابل ملاحظه‌ای از سیتوپلاسم احاطه کرده است (شکل شمارهٔ ١١). هسته آندوسپرمی مرتب تقسیم شده و هسته‌های حاصل از تقسیمات متوالی به صورت یک حلقه به دیواره تخمدان می‌چسبند (شکل شمارهٔ ١٢). در نهایت تقریباً ٦٠ تا٧٠ درصد از فضای حفره کیسه جنینی را هسته‌های آزاد آندوسپرمی پر می‌کنند. با رشد دیواره تخمدان یا همان پوست میوه، تکثیر هسته‌های آندوسپرم کند می‌شود، ولی حفره کیسه جنینی مرتب بزرگ می‌شود تا سرانجام بخش وسیعی از کیسه را پر می‌کند.

- تکامل جنین و آندوسپرم

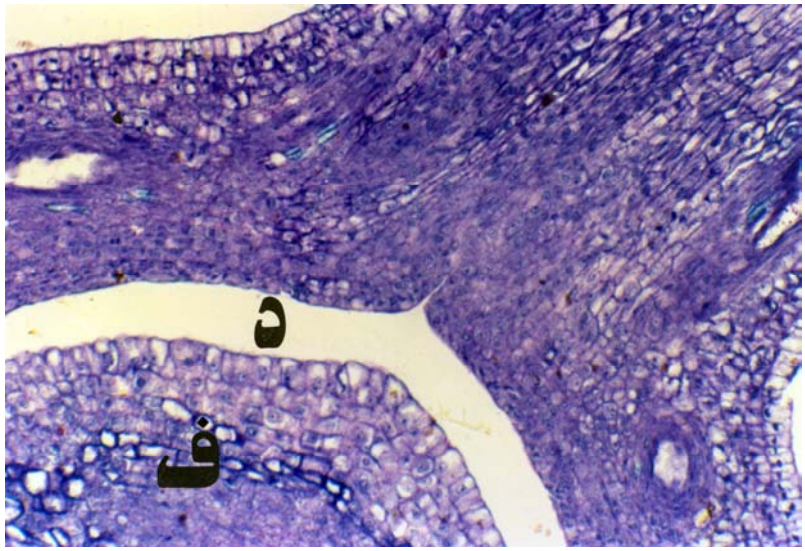
پس از کامل شدن دیواره تخمدان (پوست میوه)، آندوسپرم هسته‌ای رشد مجدد و سریع خودش را آغاز می‌کند و تقریباً نصف فضای حفره کیسه جنینی را که پر کرد، تکامل دیواره سلولی هسته‌های آندوسپرمی از سمت دیواره کیسه جنینی شروع می‌شود و سرانجام به تکامل بافت آندوسپرم می‌انجامد. در این هنگام جنین کروی کوچک (گلبولار) شروع به رشد سریع می‌کند و از طرفی سلولهای آندوسپرمی اطراف آن مرتب هضم شده و به عنوان ماده غذایی موجب رشد جنین اولیه شده و نیز در لپه‌های جنین ذخیره می‌شود (شکل شمارهٔ ١٢). در نهایت بخش کوچکی از بافت نوسل باقیمانده همراه با پوششهای تخمک (تگومانها) به‌صورت یک کیسه رنگی لپه‌ها و جنین را در بر می‌گیرند که به تستا (پوسته مغز) معروف است.



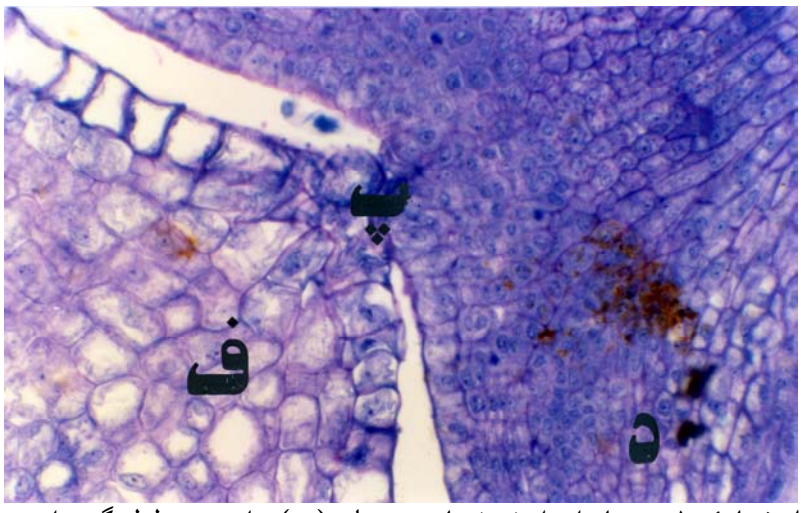
شکل شمارهٔ ۷- مسیر نفوذ لوله گرده (ل) به کیسه جنینی (ک) از طریق شالاز (ش) و بافت نوسل (ن). در این شکل جنین چند سلولی (نوک پیکان) و هسته‌های اولین آندوسپرم مشاهده می‌شود (۱۲۷ ×).



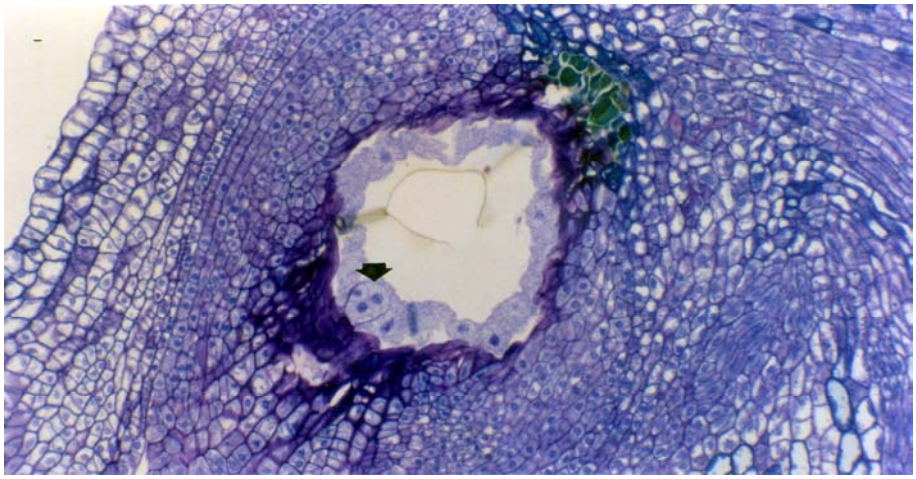
شکل شمارهٔ ۸- آندوسپرم تک هسته‌ای تک سلولی تازه تشکیل شده (پیکان) در داخل کیسه جنینی (۱۲۵ ×).



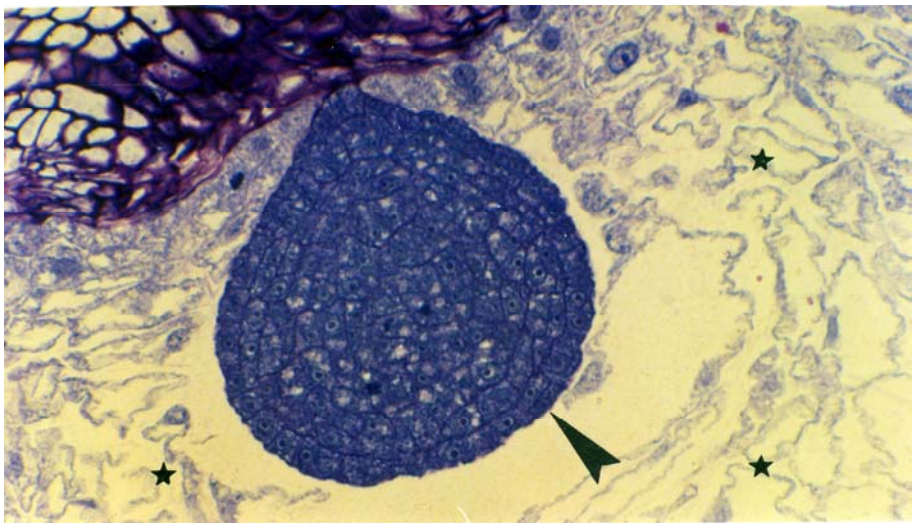
شکل شمارهٔ ۹- در این شکل فضای خالی بین دیواره تخمدان (د) و بخشی از بند ناف (فونیکول) (ف) مشاهده می‌شود که لوله گرده برای رسیدن به کیسه جنینی باید از آن عبور کند (۷۵ ×).



شکل شمارهٔ ۱۰- در پاره‌ای از نمونه‌ها وجود پلی (پ) برای عبور لوله گرده از دیواره تخمدان (د) و رسیدن به کیسه جنینی در وسط قسمت بالای فونیکول (ف) مشاهده می‌شود (۷۵ ×).



شکل شمارهٔ ۱۱- نمونه سالم یک میوه اولیه در حال رشد با جنین چند سلولی (پیکان) و لایه‌ای از هسته‌های آندوسپرمی که دیواره کیسه جنین را احاطه کرده‌اند (۱۳۵ ×).



شکل شمارهٔ ۱۲- این شکل نشان دهنده جنین کروی بزرگی (نوک پیکان) در یک گل سالم است که آندوسپرم سلولی (★) در حال هضم شدن آنرا احاطه نموده است (۱۲۰ ×).

بحث

تولید مثل در گونه‌های دو پایه‌ای مانند بنه رابطه‌ای مستقیم با شرایط محیط و میزان تطابق والدین دارد. گرده‌افشانی در گونه‌های بنه توسط باد صورت می‌گیرد. گیاهان خانواده پسته دوپایه هستند و به علت نداشتن گلهای جذاب برای حشرات، توسط باد گرده‌افشانی می‌شوند. داشتن رقم یا ارقام مناسب گرده‌افشانی جهت برداشت محصول کافی و مناسب ضروری است.

بنه همانند گونه‌های دیگر جنس پسته، به علت باد گرده‌افشان بودن، دارای کلاله بزرگی است که در هنگام گرده‌افشانی گسترده شده و زمینه پذیرش گرده در سطح کلاله فراهم می‌گردد. گرده این گونه نیز دیسکی شکل و سبک است و به‌راحتی توسط باد جابه‌جا می‌شود. تخمدان بنه دارای یک حفره است، ولی Grundwag (۱۹۷٦) نمونه‌های ۳- ۱ حفره‌ای نیز گزارش کرده است که یکی از آنها کامل شده و دوتای باقی مانده از بین رفته‌اند. در این آزمایش نمونه‌های حاوی تخمدان چند حجره‌ای مشاهده نشد.

تکامل اندامهای زایشی گلهای بنه

تکامل کلاله و خامه

تکامل کلاله بنه نشان می‌دهد که کلاله از سه قسمت مجزا با ساختمان مشابه و اندازه‌های متفاوت تشکیل شد که به خامه کوتاه متصل می‌شود. ساختمان خامه ساده است، ولی از نظر شیمیایی پیچیده و دارای ساختمان خاصی است. مشابه این نوع ساختمان در پسته آتلانتیکا و پسته خوراکی نیز گزارش شده است(Grundwag, 1976).

کلاله بنه به عنوان یک کلاله نیمه خشک می‌تواند جذب و نگهداری دانه گرده را به خوبی انجام دهد. اگر چه Heslop-Harrison (۱۹۷۷) پسته را گیاهی با کلاله نیمه خشک معرفی کرده‌اند، ولی در این آزمایش ترشحات سطح کلاله بنه در زمان بلوغ

کامل بیش از حد تصور بود (دهقانی شورکی، ۱۳۸۰) و نمی‌توان بنه را از گروه گیاهان با کلاله نیمه خشک دانست، زیرا اهمیت و کارآیی تراوشات سطح کلاله در زمان بلوغ کامل گل است که می‌توان آن را معیار مناسبی برای برآورد درصد خشکی سطح کلاله دانست.

- تکامل کیسه جنینی، لقاح و تشکیل جنین اولیه

کیسه جنینی تکامل یافته بنه از نوع پلی گنوم (۸ هسته‌ای) است. این نوع کیسه جنینی در پسته لنتیس‌کوس (Grundwag,1976) و در پسته خوراکی (Shuraki and Sedgley, 1997) نیز گزارش شده است. فرایند تکامل کیسه جنینی در بنه مشابه پسته خوراکی و پسته لنتیس‌کوس است. در عین حال میزان تلفات گل بنه در مرحله تکامل کیسه جنینی بیشتر از پسته خوراکی است که احتمالاً علت آن را باید در اختلاف شرایط رشدی و اساس ژنتیکی آنها جستجو کرد.

دوره گرده‌افشانی مؤثر در اغلب گونه‌های گیاهی اختصاصی است. در بنه این دوره حدود ٤٨ ساعت است که مشابه‌آن در پسته خوراکی گزارش شده است (Shuraki and Sedgley, 1997). در طی این مدت لوله گرده پس از تندش در سطح کلاله به کیسه جنینی می‌رسد. در بادام این مدت به ٤ روز می‌رسد و زمانی که لوله گرده بادام به قسمت پایین کلاله رسید برای چند روز در آنجا متوقف می‌شود تا کیسه جنین آمادگی لازم را برای لقاح داشته باشد. دوره گرده‌افشانی مناسب در بنه بیشتر به پسته نزدیک است. این زمان برای گلچه‌های ضعیف صادق نیست. زیرا دوره لقاح در این‌گونه گلها بسیار کوتاه است و گاهی گل برای مدت کوتاه هم توان باروری نمی‌یابد.

در این آزمایش به‌رغم متفاوت بودن فاصله پایه‌های نر نسبت به پایه‌های بارور ماده مورد آزمایش در عمل اختلاف فاحشی در میزان میوه‌های ناقص مشاهده نشد. لذا می‌توان استنباط کرد که چون پسته وحشی یک گیاه بادگرده‌افشان است، می‌تواند توسط

گرده‌هایی که از دوردست‌تر هم به گل ماده می‌رسند، به خوبی گرده‌افشانی شود و اگر مشکل شماره در ارتباط با ریزش میوه و گل در عرصه مشاهده می‌شود به مشکلات درونی گیاه که ناشی از ضعف فیزیولوژی گیاه و تنشهای اکولوژی است، مرتبط دانست.

اثرات زمان نمونه‌برداری و موقعیت درخت در میزان باروری

زمان برداشت نمونه بر روی میزان بذر سالم مؤثر بود و علت اصلی آن هم می‌تواند ریزش گل و میوه‌های ناقص و یا گرده‌افشانی نشده در مراحل اولیه رشد و نمو میوه دانست. اصولاً گونه‌هایی که گل زیاد تولید می‌کنند به مراتب بیشتر از گونه‌هایی که گل کمی تولید می‌کنند، ریزش گل و میوه، به‌خصوص در مراحل اولیه رشد و نمو دارند (Ehrlen, 1991). این مورد شامل پسته هم می‌شود و از این رو جای سؤال و نگرانی زیاد نیست. در این آزمایش نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین ریزش گل درختان در موقعیتهای مختلف مشاهده نشد.

محل استقرار گیاه بر میزان باروری نقش دارد. زیرا میزان نوری که به گیاه می‌رسد، میزان آب باران و برف که به مدت زیاد تر در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و نیز عمق و توان تغذیه‌ای بستر از عوامل مؤثر بر تولید هستند. موقعیتهای شمال و کف دره شاید به‌علت حفظ بیشتر ذخیره آب دارای نمونه‌های سالمتری بودند و شیب جنوبی بیشترین تلفات گل و میوه را داشت که می‌تواند به علت از دست رفتن سریع نزولات در این شیب باشد. اگرچه تعداد درختان مستقر در شیب شمالی و کف دره نیز به‌مراتب بیشتر از شیب جنوبی و یال بود، ولی برخی از درختان مستقر در شیب جنوبی نیز در سال اول محصول خوبی داشتند.

نتیجه اینکه موقعیت هر پایه بنه طور مستقیم بر روی باروری سالانه آن مؤثر است و این پدیده بیشتر در زمانهایی مشهود است که استرس خشکی به گیاه وارد شود. از

این‌رو کف دره‌ها و شیبهای شمالی را می‌توان جایگاه مناسبی برای استقرار و توسعه این گیاه به‌صورت باغ دست کاشت در نظر گرفت. از طرفی برای این‌گونه باغها ژنوتیپهای شناخته شده به جهت باروری مناسب و بهره‌وری بیشتر، ضروری است. تولید روغن مرغوب و رزین بیشتر و سالمتر از اهداف نهایی این مطالعه است و در نهایت کاهش فشار بر عرصه‌های طبیعی نیز حاصل می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱- ابریشمی، م. ح.، ۱۳۷۳. پسته ایران، مرکز نشر دانشگاهی تهران. ٦٧٠ صفحه.

۲- دهقانی شورکی، ی.، ۱۳۸۰. مطالعه مقدماتی ریزش گل و میوه در بنه (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. مجله جنگل و صنوبر، شماره ۱۰: ٥٥-٦٦.

3- Ehrlen, J., 1991. Why do plants produce surplus flowers? A reserve-ovary model. The American Naturalist, 138: 918-933.

4- Grundwag, M.1976. Embryo and fruit development in four species of *Pistacia* L). Anacardiaceae. Botanical Journal of the Linnean Society, (London) 73: 355-370.

5- Heslop-Harrison, Y. and Shivanna, K .R., 1977. The receptive surface of the angiosperm Stigma. Annals of Botany, 41: 1233-1258.

6- Shuraki Y.D. and Sedgley, M. 1997. Pollen tube pathway and stimulation of embryo sac development in *Pistacia vera* (Anacardiaceae). Annals of Botany, 79: 361-369.