

تأثیر برخی قارچ‌کش‌ها بر جوانه زنی و رشد لوله‌گرده بادام در شرایط *in-vitro* و *in-vivo* و تشکیل میوه در شرایط باغ

علی ایمانی^{۱*} و علی ضربایی^۲

^۱ دانشیار بخش تحقیقات باغبانی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج.
^۲ کارشناس ارشد بخش تحقیقات باغبانی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج.
* مسنول مکاتبه: imani_a45@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۴/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۲/۲۸

چکیده

جهت بهینه سازی مصرف قارچکش‌ها در باغات بادام، تأثیر هشت نوع قارچکش مختلف بر جوانه زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده رقم فراتیس بادام در شرایط *in-vitro* و *in-vivo*، و همچنین تشکیل میوه در شرایط باغ بررسی شد. به منظور تعیین رشد لوله‌گرده و همچنین تعیین درصد جوانه زنی آنها پس از مصرف قارچکش‌ها، کشت دانه‌گرده بادام در محیط کشت انجام گردید. سپس برای تعیین درصد تشکیل میوه و ریزش گل‌های سم‌پاشی شده در شرایط باغ، بعد از عمل سم‌پاشی میوه‌های تشکیل شده در دو نوبت شمارش شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طراحی و اجرا شد. مطالعه رشد لوله‌گرده در مادگی پس از گرده افشانی با میکروسکوپ فلورسنت (UV) انجام گرفت. برای بررسی وضعیت جوانه زنی دانه‌گرده در سطح کلاله و نفوذ لوله‌گرده در قسمت‌های مختلف خامه، نمونه‌های گل برداشته شده و در داخل فیکساتور FAA تثبیت شدند. نتایج حاصل از مطالعه اثر قارچکش‌ها بر جوانه زنی دانه‌گرده در محیط کشت نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تأثیر سموم مختلف وجود دارد. به طوری که بیشترین جوانه زنی در محیط کشت شاهد و حاوی قارچکش سومی ایت (یک در هزار) و کمترین جوانه زنی در محیط کشت حاوی قارچکش‌های بیم (دو در هزار) و دینوکاپ (دودر هزار) مشاهده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مربوط به درصد تشکیل میوه در شمارش اول نشان داد که بیشترین و کمترین درصد تشکیل میوه به ترتیب در تیمار سومی ایت یک در هزار و دینوکاپ دو در هزار با میانگین ۴۴/۱۸ درصد و ۲۷/۹۷ درصد بود. این مقدار در شاهد ۵۱/۷۲ درصد به دست آمد. بررسی رشد لوله‌گرده در سطح کلاله، یک دوم بالای میانی خامه و یک دوم پایین میانی خامه نشان داد که تعداد دانه‌گرده جوانه زده در سطح کلاله در تیمارهای مختلف از قارچکش‌ها متفاوت بود به طوری که در شاهد میانگین تعداد دانه‌گرده جوانه زده در سطح کلاله ۴۵ درصد، در یک دوم بالای میانی خامه ۳۷ درصد و یک دوم پایین میانی خامه هفت درصد بود در حالی که در تیمار سومی ایت یک در هزار میانگین تعداد دانه‌گرده جوانه زده نواحی مذکور بترتیب ۳۷، ۲۸ و پنج درصد بود که نشان می‌دهد قارچکش بر روی رشد دانه‌گرده در قسمت‌های مختلف مادگی تأثیر داشته است.

واژه‌های کلیدی: بادام (*Prunus dulcis* (Miller)، جوانه زنی‌گرده، قارچکش، گرده افشانی.

مقدمه

باشد، از نکات حیاتی بوده و باعث افزایش عملکرد و کیفیت بسیاری از محصولات از جمله بادام می‌شود (فاکتو و چسنا ۱۹۸۳، اوزتورک و کندن ۲۰۱۰). یکی

گرده افشانی کافی و باروری در محصولات کشاورزی، زمانی که هدف نهایی تولید میوه و بذر

(چرچ و ویلیامز ۱۹۷۸، ردالن ۱۹۸۰، مارکوسی و همکاران ۱۹۸۳، مارکوسی و فیلیتی ۱۹۸۴، بریستو و ویندوم ۱۹۸۷، واترز و استورژن ۱۹۹۰، هی و همکاران ۱۹۹۵، وتستین ۱۹۹۰، نکولوف و همکاران ۱۹۹۹، یای و همکاران ۲۰۰۳c, d، هولب ۲۰۰۸). نتایج آزمایش‌های قارچ‌کش‌های ارزیابی شده برای جوانه زنی گرده سیب شامل کاپتان، مایکلوبوتانیل و استریپتومایسین و برای بادام شامل آزوکسی‌تروبین، مایکلوبوتانیل، ایپرودیون و سیپرودیول نشان داد که زمانی که گرده‌افشانی ۱۸ ساعت بعد از تیمار انجام شود، کاپتان جوانه زنی گرده را تا ۲۰ درصد در مقایسه با شاهد (آب خالص) کاهش می‌دهد. تعداد لوله‌های گرده‌ای که به قاعده خامه رسیده بودند در طی بیست ساعت تحت تأثیر قرار نگرفتند. در این گزارش مایکلوبوتانیل و استریپتومایسین هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر رشد لوله‌گرده بادام نداشته‌اند (یای و همکاران ۲۰۰۳a). دانه‌های گرده‌ای که با قارچ‌کش‌ها در شرایط درون شیشه‌ای^۱ تیمار شده بودند کاهش جوانه زنی گرده، تغییر شکل پاره‌گی لوله‌گرده در آنها مشاهده شده است (لاسرده و همکاران ۱۹۹۴، پاولیک و جانورا ۲۰۰۰).

در سایر محصولات نیز گزارش شده‌است که وقتی قارچ‌کش‌ها در زمان گل‌دهی به‌کار برده می‌شود از رشد گرده جلوگیری می‌کنند به عنوان مثال کاهش در جوانه زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده در گل‌های گوجه‌فرنگی وقتی که با کلروتالونیل ۷۵٪ (۳۲۰۰ پی پی ام از ماده موثر)^۲ و مانکوزب ۸۰٪ (۲۴۰۰ پی پی ام از ماده موثر) + دیبروم ۸۶٪ (۱۰۳۰ پی پی ام از ماده موثر)^۳ تیمار شده، مشاهده شده است (لاسرده و همکاران ۱۹۹۴). از طرفی اگرچه مطالعات بسیاری روی اثرات قارچ‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها بر جوانه‌زنی گرده و رشد لوله‌گرده انجام شده، اما مطالعات علمی کمی در زمینه اثر قارچ‌کش‌ها

از راه‌های افزایش عملکرد بادام استفاده از قارچ‌کش‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و حشره‌کش‌ها در مقابل آفات مختلف می‌باشد (فل و همکاران ۱۹۸۳، چرچ و همکاران ۱۹۸۳a,b، بوت و همکاران ۱۹۸۵، تورت و همکاران ۲۰۰۵). قارچ‌های عامل بیماری بلایت گل و شاخه (*Monilinia laxa* و *M. cinerea*) عامل محدودیت تولید محصول در سراسر دنیا هستند. زمانی که شکوفه دهی درختان همراه با بارندگی باشد این قارچ‌ها به شکوفه‌ها حمله می‌کنند (میک ۱۹۹۶). جهت کنترل بیماری بلایت گل بادام که عامل آن قارچ‌های *Monilinia fructicola* و یا *M. laxa* می‌باشند، درختان بادام در زمان گل‌دهی در سطح وسیع سمپاشی می‌شوند. بنابراین جوانه زنی دانه‌گرده و عمل آن ممکن است تحت تأثیر قارچ‌کش‌ها قرار گیرد. کنترل بسیاری از بیماری‌های قارچی دیگر بادام نظیر پوسیدگی قهوه‌ای، پوسیدگی شکوفه، غربالی و آنتراکنوز نیز عموماً با استفاده از قارچ‌کش‌ها انجام می‌شود که ممکن است زمان تیمار این قارچ‌کش‌ها قبل، در حین و یا بلافاصله پس از گل‌دهی باشد (لین و بسی ۲۰۰۸). تحقیقات متعددی روی اثرات نامطلوب مواد شیمیایی بر جوانه‌زنی، گرده‌افشانی، تشکیل میوه و عملکرد محصول بادام انجام شده است (الین و همکاران ۱۹۹۵، یای و همکاران ۲۰۰۳a، موسن و مونتگو ۲۰۰۴)، که نشان داده‌اند کاربرد بیش از حد قارچ‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها و یا کاربرد اشتباه آنها علاوه بر اثرات زیست‌محیطی باعث کاهش عملکرد محصولات تجاری بویژه بادام می‌شود (چرچ و ویلیامز ۱۹۸۳، مایر و لاندن ۱۹۸۶، هی و همکاران ۱۹۹۶، یای و همکاران ۲۰۰۳b). از این رو برای کاهش این نوع اثرات جانبی، تحقیقات متعددی پیرامون اثرات قارچ‌کش‌ها بر عوامل زیست‌محیطی و همچنین کاهش عملکرد محصول به ویژه تعیین اثرات هر یک از این قارچ‌کش‌ها روی جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده که از نظر تجاری مهم می‌باشد انجام گردیده است

^۱ In-vitro^۲ Chlorothalonil 75% WP (3.200 ppm a.i.)^۳ Dibrom 86% EC (1.030 ppm a.i.)

روی جوانه‌زنی دانه‌گرده وجود دارد. مطالعات درون شیشه‌ای در مقایسه با شرایط مزرعه‌ای در بادام توسط یای و همکارانش (۲۰۰۳d) بررسی شد. در باغات بادام پاشش قارچ‌کش‌های آزوکسی استروبین، مایکلوبوتانیل، ایپرودیون و سیپرودینیل روی جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده اثر مشخصی نداشت. این محققین به این نتیجه رسیدند که عوامل دیگری مانند تنش سرمایی، خشکی در طی گل‌دهی، کمبود تغذیه و آسیب‌های حشرات، روی جوانه‌زنی موثر بوده و ممکن است بر نتایج حاصل از اثر قارچ‌کش‌ها در رابطه با گرده‌افشانی تغییراتی را به وجود آورد. از طرفی اثرات تعیین‌کننده حشره‌کش‌ها، کنه‌کش‌ها و سایر ترکیبات شیمیایی بر جوانه‌زنی گرده، تشکیل میوه و عملکرد سیب توسط محققین مختلف گزارش شده‌است (مایر و لاندن ۱۹۸۶، باند و جونز ۲۰۰۴، نیکلز و همکاران ۲۰۰۴). مایر و لاندن (۱۹۸۶)، متوجه شدند کنه‌کش‌های مورد استفاده در زمان گل‌دهی روی قوه نامیه دانه‌گرده سیب و گلابی موثر است. نیکلز و همکارانش (۲۰۰۴)، اثر تیوسولفات آمونیوم و روغن‌های معدنی را همراه با کاربایل بر خواص شکوفه‌های سیب رقم نورسرن اسپای را مطالعه کردند و به این نتیجه رسیدند که ریزش میوه و متوسط وزن با کاربرد روغن‌های معدنی به همراه کاربایل افزایش می‌یابد. باند و جونز (۲۰۰۴) تیوسولفات آمونیوم را به عنوان تنک‌کننده گل روی سیب دلیشز، گلابی وینتر کول و زردآلو هانتر آزمودند و نشان دادند غلظت چهار درصد تیوفانات آمونیوم بر محصول سبب سوختن شاخه، برگ و گل می‌شود. غلظت ۱/۵ درصد تیوفانات آمونیوم میزان محصول را تا سطحی قابل قبول بدون آسیب شدید کاهش داد که تا غلظت ۳٪ بر ارقام ذکر شده بی‌اثر بوده‌است. شیوع زنگ در سیب دلیشز با کاربرد حداکثر غلظت در زمان ۲۰٪ گل‌دهی مشاهده گردید. وقتی که تیوسولفات آمونیوم با غلظت ۲٪ روی زردآلو هانتر در ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد شکوفه‌دهی به کار برده شد، تشکیل میوه بدون در نظر گرفتن

روی باروری گل و تشکیل میوه وجود دارد ولی کاربرد قارچ‌کش‌ها در طی دوره گل‌دهی موجب تشکیل ضعیف میوه در بسیاری از نواحی پرورش سیب شده‌است (کوپک و همکاران ۲۰۰۲). طبق گزارش کلی (۱۹۹۱)، کاربرد هر نوع قارچ‌کش در زمان گرده‌افشانی از تشکیل مناسب میوه جلوگیری می‌کند. بنابراین قارچ‌کشی که از کمترین درجه سمیت برخوردار است بهترین گزینه برای استفاده می‌باشد. کلی و گرین (۱۹۹۴)، آزمایشات متعددی در رابطه با اثر کاپتان، هیدروکسید مس، روغن معدنی و قارچ‌کش‌های بازدارنده استرول روی جوانه‌زنی و تشکیل میوه انجام داده و نشان دادند که کاپتان و فناریمول با و بدون کاربرد هیدروکسید مس اثر معنی‌دار بر درصد تشکیل میوه در رقم سیب مک انتوش در انگلستان نداشت. با وجود این نشان دادند، زمان کاربرد کاپتان در کاهش تشکیل میوه موثر نیست.

در هلو، الین و همکاران (۱۹۹۵) ثابت کردند که تیوسولفات آمونیوم و قارچ‌کش‌ها وقتی که به صورت مخلوط به کار می‌روند باعث سوختن شکوفه‌ها و شاخه‌ها می‌شوند. ولی زمانی که به طور جداگانه مصرف شوند این اتفاق کمتر می‌افتد. همچنین تعداد نه قارچ‌کش به تنهایی و همراه با تیوسولفات آمونیوم تحت شرایط باغی تجارتي مورد آزمایش قرار گرفتند، نتایج نشان داد تعداد میوه در درختان تنها به وسیله تیوسولفات آمونیوم و تعداد گل‌های سوخته در درختان فقط به وسیله قارچ‌کش‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. از روش دیگر برای بررسی اثرات قارچ‌کش‌ها بر روی گرده می‌توان به اثرات قارچ‌کش‌ها بر روی گرده در شرایط درون شیشه‌ای اشاره نمود. به طوری که چرچ و ویلیامز (۱۹۷۸) نشان دادند که کاپتان، بنومیل و تیوفانات متیل از جوانه‌زنی دانه‌گرده سیب در شرایط درون شیشه‌ای جلوگیری می‌کنند. آن‌ها نشان دادند که آزمون درون شیشه‌ای، آزمون مفیدی در تعیین سمیت نسبی قارچ‌کش‌ها بوده و نیز ارتباط خوبی بین نتایج حاصل از شرایط درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای در تأثیر بر

شکل^۱ بودند بساک‌ها با استفاده از پنس به آرامی جدا شدند و به مدت ۱۸-۱۲ ساعت بر روی یک برگ کاغذ در دمای اتاق (۲۰ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند تا مقداری از رطوبت خود را از دست داده، شکاف بردارند و گرده‌ها آزاد شوند. گرده‌های آزاد شده، در شیشه‌های پنی سیلین تمیز و ضد عفونی شده، ریخته شدند. به منظور تبادل هوا در داخل شیشه‌های پنی سیلین، بجای درب اصلی شیشه‌ها از پنبه استریل استفاده گردید. پس از ثبت تاریخ و مشخصات دانه‌گرده، تمامی شیشه‌ها برای مدتی کوتاه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند.

کشت درون شیشه‌ای دانه‌گرده

برای کشت دانه‌گرده و تعیین تأثیر سموم مختلف قارچ‌کش بر جوانه زنی آن و رشد لوله‌گرده در شرایط درون شیشه‌ای، دانه‌های گرده در محیط کشت پایه (۱۵ درصد ساکارز و دو درصد آگار) همچنین دو غلظت متفاوت از هر قارچ‌کش و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار قرار داده شدند. محیط کشت مورد استفاده در این آزمایش شامل ساکارز ۱۰ درصد، آگار ۲٪، نیترات پتاسیم ۱۰۰ پی پی ام، سولفات منیزیم ۱۰۰ پی پی ام، اسیدبوریک ۱۰۰ پی پی ام و نیترات کلسیم ۲۰۰ پی پی ام بود (ایمانی و همکاران ۲۰۱۱). محیط‌های کشت آماده شده به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو استریل شد. پس از خارج کردن محیط‌های کشت از اتوکلاو و قبل از ژله‌ای شدن یا بستن محیط کشت در زیر هود لامینار در داخل پتری‌دیش‌های به قطر ۷/۵ و ارتفاع یک سانتی متر توزیع و تا زمان کشت دانه‌های گرده، در پلاستیک‌های محافظ غذا نگهداری شد.

سپس دانه‌های گرده با استفاده از قلم‌مو، به طور یکنواخت بر روی محیط‌های کشت ژله‌ای پخش و آنگاه سموم سومی ایت در غلظت‌های (دو در هزار و یک در هزار)، کربوکسی تیرام در غلظت‌های (دو در هزار و یک

زمان کاربرد کاهش یافت. در این راستا گزارش‌ها در ایران به ویژه در مورد درختان میوه کمتر است. بنابراین این آزمایش جهت تعیین تأثیر قارچ‌کش‌های انتخابی بر جوانه زنی و رشد لوله‌گرده بادام در شرایط درون شیشه‌ای، درون بافتی و تشکیل میوه در شرایط باغ انجام شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات اقلیمی و جغرافیایی محل اجرای تحقیق و مواد گیاهی مورد استفاده

این تحقیق در کرج بر روی درختان ۱۰ ساله بادام رقم فرانیس پیوند شده روی پایه‌های بذری که کلیه عملیات زراعی در آنها یکسان بوده، انجام شد. باغ محل اجرای تحقیق در ارتفاع ۱۳۲۱ متری از سطح دریا با طول جغرافیایی ۵۱ درجه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی قرار داشت. میانگین حداکثر دما در منطقه ۲۰/۳ و حداقل آن ۱/۳۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

به منظور بررسی تأثیر قارچ‌کش‌های مورد نظر بر روی گرده افشانی، رقم تجاری بادام فرانیس انتخاب گردید. برای هر تیمار، یک درخت با سه تکرار که هر تکرار بر روی شاخه‌های درختان انتخاب شده در جهت‌های مختلف بود. شاخه‌های انتخابی برای انجام آزمایش با اتیکت علامت گذاری گردیدند. لازم به توضیح می‌باشد که در این آزمایش سعی گردید تمام شرایط از جمله طول شاخه‌ها، قطر شاخه‌ها، تعداد جوانه‌های گل و سایر موارد مورفولوژیکی مشابه باشد.

جمع‌آوری دانه‌گرده

به منظور جمع‌آوری دانه‌گرده، شاخه‌های حاوی غنچه به طول تقریبی ۵۰ سانتیمتر از رقم بادام فرانیس تهیه و به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از قطع چند سانتی متر از قسمت پایین شاخه‌ها، آنها در ظروف آب مقطر حاوی ۵٪ ساکارز قرار داده شده و پس از گذشت ۲۴ ساعت و زمانی که غنچه‌ها در انتهای مرحله بادکنکی

^۱Balloon stage

و افزایش رنگ پذیری مادگی ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار یک کیلو گرم بر سانتی متر مربع به مدت ۳۰ دقیقه اتوکلاو شدند. در نهایت در دمای چهار درجه سانتی گراد تا زمان مشاهده نگهداری شدند (سوسیاس و همکاران ۱۹۷۶). به منظور آماده سازی نمونه ها جهت مشاهده میکروسکوپی (رنگ آمیزی نمونه ها) از آنیلین بلو ۰/۱٪ و فسفات پتاسیم ۰/۱٪ نرمال استفاده گردید. برای تهیه یک لیتر محلول آبی آنیلین، ۷/۶۷ گرم فسفات پتاسیم خالص در یک لیتر آب مقطر حل شد و سپس یک گرم آنیلین بلو به آن اضافه گردید و محلول به مدت ۱۲ ساعت روی هم زن با دور کم قرار داده شد تا کاملا حل شده و رنگ آن سبز زیتونی شود. بعد از تهیه محلول فوق مادگی ها به مدت هشت ساعت داخل محلول رنگی قرار گرفتند و بعد از آن با یک پنس باریک کرک های روی خامه تمیز شدند. سپس با یک تیغ تمیز تخمدان از خامه جدا و مادگی بین لام و لامل با اندکی فشار له شده و به کمک یک قطره گلیسرول و چسب انتقالان لامل گذاری شد (ایمانی و همکاران ۲۰۱۱). برای هر مادگی میانگین جوانه زنی دانه گرده در سطح کلاله و نفوذ لوله گرده در یک دوم بالای میانی خامه و یک دوم پایین میانی خامه با میکروسکوپ فلورسنت (Leitz and Wetzler) بررسی و ثبت شد.

تعیین میزان تشکیل میوه در باغ

به منظور تعیین میزان تشکیل میوه در باغ، شاخه هایی که دارای بیشترین گل و در شرایط محیطی و مرفولوژیکی یکسان، در چهار جهت اصلی و در زمان تمام گل، انتخاب شده و به وسیله قارچ کش های مورد نظر با غلظت های استاندارد و دو برابر غلظت استاندارد سم پاشی گردیدند. پس از انجام عملیات سمپاشی بلافاصله نسبت به اتیکت گذاری شاخه ها اقدام گردید و به منظور تعیین درصد تشکیل میوه و همچنین ریزش گل های گرده افشانی شده، در ۲ نوبت بعد از سمپاشی شمارش میوه ها (شمارش اول ۳۰ روز بعد از گرده افشانی، شمارش دوم ۱۲۰ روز بعد از گرده افشانی)

در هزار)، بیم در غلظت های (دو در هزار و یک در هزار)، دینوکاپ در غلظت های (دو در هزار و یک در هزار)، تیوفانات متیل در غلظت های (۰/۵ در هزار و یک در هزار)، اکسی کلرور مس در غلظت های (سه در هزار و ۱/۵ در هزار)، بنومیل در غلظت های (یک در هزار و ۰/۵ در هزار) و تکتو در غلظت های (دو در هزار و یک در هزار) به وسیله سرنگ های مخصوص پاشیده شده و تشتک های پتری با پارافیلیم پوشیده شدند. این تشتک ها در انکوباتور در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۲ ساعت، تشتک های پتری برای تعیین درصد جوانه زنی دانه های گرده در زیر میکروسکوپ نوری مورد مشاهده قرار گرفتند. پس از مشاهده و یادداشت برداری، مشخصات مرفولوژیکی و آناتومیکی (اوزترک و کندان ۲۰۱۰) و درصد جوانه زنی دانه های گرده محاسبه گردید. در هر تشتک پتری سه میدان دید^۱ بطور کاملا تصادفی انتخاب گردید و تعداد دانه گرده های جوانه زده و تعداد کل دانه های گرده آن میدان دید، شمارش و نسبت بین آنها به درصد تعیین شد.

مشاهده وضعیت گرده افشانی با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت

در این آزمایش یک شاخه از بادام رقم فرانیس انتخاب و سپس سموم ذکر شده با غلظت های پیش گفته به وسیله سمپاش، سمپاشی گردیدند. پس از ۱۲۰ ساعت از سم پاشی، از هر شاخه حداقل پنج گل برداشته شده و در داخل فیکساتور FAA (ترکیبی از ۵٪ فرم آلدئید ۴۰ درصد، ۵٪ اسید استیک گلوسیال، ۲۴٪ آب دوبار تقطیر ۶۵٪ الکل ۹۶ درصد) قرار داده شد. پس از دو ماه نمونه ها از داخل محلول فیکساتور FAA خارج شده و چندین بار به دقت شسته شدند. نمونه هادر داخل ویال های شیشه ای حاوی ۱۵ میلی لیتر سولفات سدیم ۵٪ قرار گرفته و به منظور نرم شدن بافت و نفوذ کافی رنگ

^۱ Scope

می باشد (مارکوسی و فیلیتی ۱۹۸۴). از طرفی درنتایج حاصل از پژوهش حاضر مشخص گردید که درصد جوانه‌زنی در محیط‌های کشت بطور مثال حاوی سم دینوکاپ در مقایسه با تیوفانات متیل به طور موثر بازدارنده شد همان طور که طبق گزارش پاولیک و جاندوروا (۲۰۰۰) اگر سموم با غلظت مناسب بکار برده شوند می‌توانند نقش مهمی در جوانه‌زنی گرده و تشکیل میوه بازی کنند ولی در غیر این صورت اثرات متفاوت و گاهی به دلیل ایجاد سمیت اثرات بازدارندگی بروز می‌دهد که این حالت در بررسی جوانه‌زنی گرده برخی ارقام و گونه‌ها گزارش شده است (ردالن ۱۹۸۰، مارکوسی و فیلیتی ۱۹۸۴). در این آزمایش نیز همچون گزارشات لاسردا و همکاران (۱۹۹۴) و پاولیک و جاندوروا (۲۰۰۰) دانه‌های گرده‌ای که با قارچ‌کش‌ها در شرایط درون شیشه‌ای^۱ تیمار شده بودند کاهش جوانه زنی گرده و تغییر شکل و پاره شدن لوله گرده در آنها مشاهده شد.

درصد تشکیل میوه در شمارش اول

نتایج مربوط به مطالعه درصد تشکیل میوه در هر شاخه بر اساس تعداد میوه تشکیل شده با تیمارهای قارچ‌کش محاسبه گردید و تجزیه واریانس بر اساس طرح بلوکهای کامل تصادفی انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس در شمارش اول اختلاف معنی دار بین تیمارها را نشان داد. همچنین نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در شمارش اول برای رقم فرانسیس حاکی از آن بود که بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود دارد. بالاترین درصد تشکیل میوه با تیمار سومی ایت یک در هزار با میانگین ۴۴/۱۸ درصد و کمترین درصد تشکیل میوه با تیمار دینوکاپ دو در هزار با میانگین ۲۷/۹۷ درصد در مقایسه با شاهد که ۵۱/۷۲ درصد بود به دست آمد (شکل ۱).

انجام پذیرفت. همچنین سه شاخه به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در نهایت تعداد و درصد میوه‌های هر واحد آزمایشی با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

تعیین درصد جوانه زنی دانه گرده

نتایج حاصل از تأثیر قارچ‌کش‌های مورد مطالعه بر روی جوانه زنی، مرفولوژی و آناتومی دانه گرده نشان داد که تأثیر بر جوانه زنی دانه‌های گرده بین ۸۵ درصد در تیمار سومی ایت یک در هزار تا صفر درصد در تیمار بیم یک و دو در هزار، کربوکسین تیرام دو در هزار و دینوکاپ یک و دو در هزار متغیر بود، که در مقایسه با شاهد که دانه‌های گرده دارای جوانه زنی ۱۰۰ درصد بود، تفاوت معنی داری مشاهده شد (جدول ۱). قارچ‌کش‌های مورد استفاده اثرات متفاوتی بر جوانه زنی دانه‌های گرده داشتند به طوری که درصد جوانه زنی از صفر درصد تا ۸۵ درصد متغیر بود. همچنین تأثیر قارچ‌کش‌های انتخابی با غلظت‌های متفاوت بر روی مرفولوژی و آناتومی دانه‌های گرده و رشد لوله گرده متفاوت بود. همان طوری که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در تیمار سومی ایت یک در هزار، دانه‌های گرده شفاف و دارای لوله گرده بلند کشیده بود در حالی که در تیمار قارچ‌کش دینوکاپ یک و دو در هزار دانه‌های گرده سیاه رنگ شده و فاقد لوله گرده بودند. در تیمار با کربوکسین تیرام دو در هزار دانه‌های گرده تیره رنگ بوده و لوله گرده ضعیف و با رشد کوتاه بود. همچنین در تیمار با بیم یک و دو در هزار دانه‌های گرده سیاه رنگ و فاقد لوله گرده بودند (جدول ۱). در بعضی از تیمارها نیز گرده‌ها به صورت غیر نرمال تغییر شکل داده و یا لوله گرده بلند ولی ضعیف تشکیل داده بودند. تمام مشخصات مرفولوژیکی و آناتومی بهمراه درصد جوانه زنی دانه‌های گرده در جدول ۱ ارائه شده است. طبق گزارش‌های برخی دیگر از محققان، وجود سموم قارچ‌کش در محیط کشت برای رشد لوله گرده بازدارنده

^۱In-vitro

درصد تشکیل میوه در شمارش دوم

نتایج مربوط به مطالعه درصد تشکیل میوه در شمارش دوم برای رقم فرانیس نشان میدهد که بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود دارد. بالاترین درصد تشکیل میوه با تیمار سومی ایت یک در هزار با میانگین ۲۶/۱۸ درصد، و کمترین درصد تشکیل میوه با تیمار دینوکاپ دو در هزار با میانگین صفر درصد در مقایسه با شاهد که ۳۷/۷۲ درصد بود به دست آمد (شکل ۲). اثرات قارچ‌کش‌های مورد استفاده در غلظت‌های زیاد از جنبه‌های مختلف توسط پژوهش‌گران بررسی شده است. تعدادی از این مطالعات در سال‌های اخیر نشان دهنده آن است که قارچ‌کش‌ها اثرات سمی روی دانه‌گرده و سپس بر جوانه زنی و درنهایت تشکیل میوه دارند (پاولیک و جاندورا ۲۰۰۰). استفاده از غلظت بیشتر قارچ‌کش تریازول بر برخی از درختان میوه در طی دوره گل‌دهی اثرات منفی روی جوانه زنی و تشکیل میوه داشته است (ردالن ۱۹۸۰، مارکوسی و فیلیتی ۱۹۸۴). به طور مشابه گزارش شده است که کاپتان و سایر قارچ‌کش‌ها قوه نامیه دانه‌گرده را در اغلب کشت‌های سیب تحت تأثیر کاهش‌ی قرار داده است (ردالن ۱۹۸۰، مارکوسی و فیلیتی ۱۹۸۴). بنابراین کاربرد بیش از حد قارچ‌کش‌ها، حشره‌کش‌ها و آنتی بیوتیک‌ها و یا کاربرد غیر صحیح آنها می‌تواند علاوه بر اثرات زیست‌محیطی درنهایت باعث کاهش عملکرد محصولات از جمله بادام شود (هی و همکاران ۱۹۹۵، مایر و لاندن ۱۹۸۶). همچنین قارچ‌کش‌ها، آنتی بیوتیک‌ها و حشره‌کش‌های مورد استفاده در حذف آفات و عوامل بیماری‌زا گاهی سبب بروز اختلال در فرآیند‌های حیاتی نظیر فتوسنتز و تنفس می‌شود (لاسرده و همکاران ۱۹۹۴، پاولیک و جاندورا ۲۰۰۰، هولب ۲۰۰۸) و در نهایت تولید میوه در درخت را متأثر می‌کند (ردالن ۱۹۸۰، مارکوسی و فیلیتی ۱۹۸۴).

بررسی وضعیت‌گرده افشانی با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت

بدین منظور میانگین تعداد دانه‌گرده جوانه زده در سطح کلاله، میانگین تعداد لوله‌گرده در یک دوم بالای میان‌خامه و میانگین تعداد لوله‌گرده در یک دوم پایین میان‌خامه بعد از ۱۲۰ ساعت مورد بررسی قرار گرفت و در شکل‌های ۳ و ۴ نمونه‌ای از تصاویر میکروسکوپی لوله‌گرده و سطح کلاله آورده شده است همچنین نتایج‌گرده افشانی با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت در جدول ۲ نشان داده شده است.

بررسی رشد لوله‌گرده در سطح کلاله، یک دوم بالای میان‌خامه، یک دوم پایین میان‌خامه با میکروسکوپ UV نشان داد که تعداد دانه‌گرده جوانه زده در سطح کلاله با تیمارهای مختلف قارچ‌کش‌های انتخابی متفاوت بود به طوری که در شاهد میانگین تعداد دانه‌گرده جوانه زده در سطح کلاله ۴۵ درصد و در یک دوم بالای میان‌خامه ۳۷ درصد و یک دوم پایین میان‌خامه ۷ درصد بود در حالی که در تیمار سومی ایت یک در هزار این مقادیر بترتیب ۳۷، ۲۸ و پنج درصد بود که نشان می‌دهد قارچ‌کش بر رشد دانه‌گرده در قسمت‌های مختلف مادگی تأثیر داشته است.

در مطالعات اثر قارچ‌کش‌ها روی مرفولوژی کلاله درختان بادام، سطح کلاله تیمار شده با چهار نوع از قارچ‌کش‌های ایپرودیون^۱، مایکلوبوتانیال^۲، آزوکسی استروبین^۳ و سیپرودینیل^۴ بوسیله میکروسکوپ الکترونی چهار و ۲۴ ساعت بعد از کاربرد سم، بررسی و بدشکل شدن قسمت‌های سطح کلاله و شکستن سلول‌های کلاله بعد از ۲۴ ساعت تیمار با آزوکسی استروبین مشاهده شده است (یای و همکاران ۲۰۰۳b) که

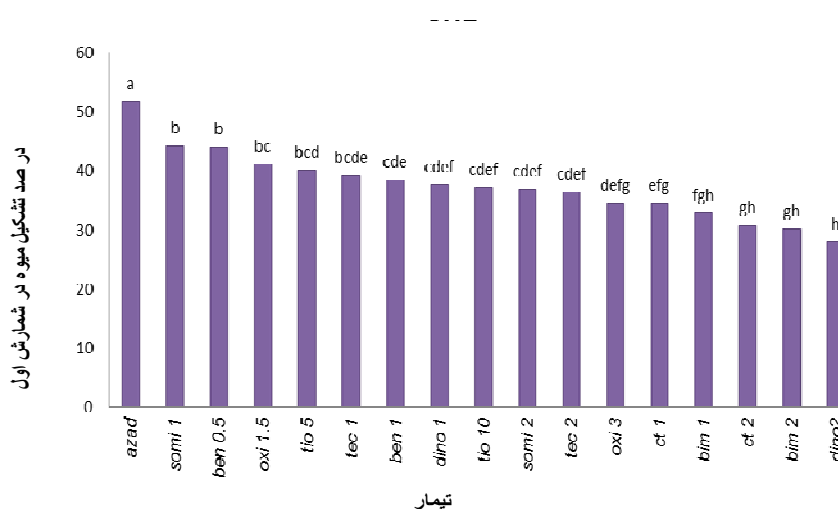
^۱Iprodione^۲Myclobutanil^۳Azoxystrobin^۴Cyprodinil

جدول ۱- مقایسه میانگین تاثیر قارچ کش های مورد مطالعه بر مشخصات مورفولوژیکی و آناتومیکی، و درصد جوانه زنی و رشد لوله گرده بادام در شرایط درون شیشه‌ای.

نام سم	غلظت	جوانه زنی دانه گرده (%)	مشخصات مورفولوژیکی و آناتومیکی
شاهد	آب مقطر	۱۰۰a	لوله گرده قوی، بلند کشیده و شفاف
سومی ایت (Sumi-eight)	دو در هزار	۴۵c	دارای لوله گرده بلند و دانه گرده نیمه شفاف
سومی ایت (Sumi-eight)	یک در هزار	۸۵ a	لوله گرده بلند و کشیده و دانه گرده شفاف
اکسی کلرور (Copper oxychloride)	یک و نیم در هزار	۲۰d	لوله گرده کوتاه و ضعیف
اکسی کلرور (Copper oxychloride)	سه در هزار	۱۲e±۰/۸۷۰۳	دانه گرده تیره، لوله گرده کوتاه تا متوسط
دینوکاپ (Dinocap)	یک در هزار	۰f	فاقد لوله گرده با دانه گرده سیاه رنگ
دینوکاپ (Dinocap)	دو در هزار	۰f	فاقد لوله گرده با دانه گرده سیاه رنگ
تیوفانات متیل (Thiophanate-methyl)	نیم در هزار	۷۵ a	لوله گرده بلند، ضعیف، متوسط
تیوفانات متیل (Thiophanate-methyl)	یک در هزار	۶۲ b	دانه گرده سیاه، طول لوله گرده از متوسط تا بلند
کربوکسی تیرام (Carboxin thiram)	یک در هزار	۱۰e	دانه گرده تیره، لوله گرده ضعیف و کوتاه
کربوکسی تیرام (Carboxin thiram)	دو در هزار	۰f	دانه گرده تیره، لوله گرده ضعیف و کوتاه
بیم (Beam)	یک در هزار	۰f	دانه گرده سیاه رنگ و فاقد لوله گرده
بیم (Beam)	دو در هزار	۰ f	دانه گرده سیاه رنگ و فاقد لوله گرده
بنومیل (Benomy)	یک در هزار	۱۰e	دانه گرده غیر نرمال، طول لوله گرده کوتاه و ضعیف
بنومیل (Benomy)	نیم در هزار	۲۰d	لوله گرده بلند ولی ضعیف
تکتو (Tecto)	یک در هزار	۲۲d	لوله گرده بلند ولی ضعیف
تکتو (Tecto)	دو در هزار	۱۰e	لوله گرده بلند ولی ضعیف

میانگین های با حروف مشترک دارای اختلاف معنی دار در سطح یک درصد نمی باشند.

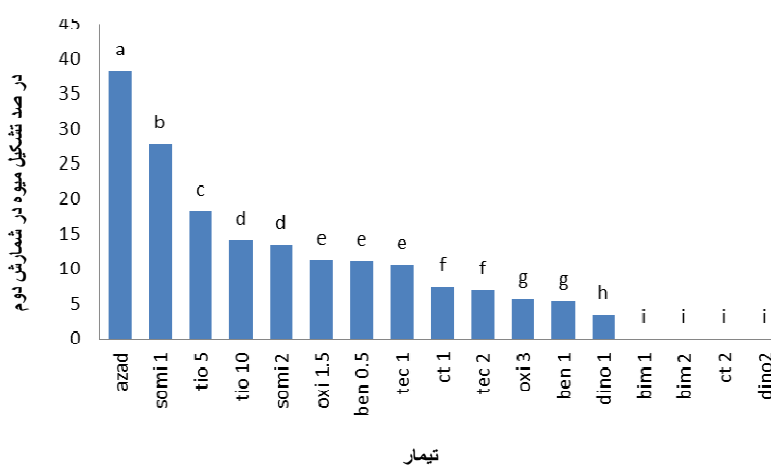
تیوفانات Dinocap=Dino =دینوکاپ؛ Copper oxychloride=oxi = اکسی کلرور؛ Sumi-eight =Somi l =سومی ایت؛ شاهد=Azad=Control
یک =Carboxin thiram=ct=؛ =کربوکسی تیرام Tecto= Tec؛ =بنومیل Benomyl=ben؛ =بنومیل Beam=bim؛ =بیم Thiophanate-methyl=متیل؛
(در هزار)



Azad=Control =سومی ایت=شاهد= Sumi-eight =Somi1؛ اکسی کلرور = Copper oxychloride=oxi؛ دینوکاپ = Thiophanate-methyl=tio؛ تیم = Beam=bim؛ بنومیل = Benomyl=ben؛ Tecto نکتو؛ دینوکاپ =Dinocap=Dino؛ تیوفانات متیل = Carboxin thiram=ct؛ (یک در هزار)؛ کربوکسی تیرام = Tec=

حروف مشابه نشانگر فقدان اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد.

شکل ۱- اثر قارچ کش های مختلف بر تشکیل میوه رقم فرانس در شمارش اول



Azad=Control =سومی ایت=شاهد= Sumi-eight =Somi1؛ اکسی کلرور = Copper oxychloride=oxi؛ دینوکاپ = Thiophanate-methyl=tio؛ تیم = Beam=bim؛ بنومیل = Benomyl=ben؛ Tecto نکتو؛ دینوکاپ =Dinocap=Dino؛ تیوفانات متیل = Carboxin thiram=ct؛ (یک در هزار)؛ کربوکسی تیرام = Tec=

حروف مشابه نشانگر فقدان اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد می باشد.

شکل ۲- اثر قارچ کش های مختلف بر تشکیل میوه رقم فرانس در شمارش دوم.

زمانی که گرده افشانی ۱۸ ساعت بعد از تیمار انجام شد، تا ۲۰ درصد در مقایسه با شاهد (آب) کاهش می دهد. تعداد لوله های گرده ای که به قاعده خامه رسیده بودند در طی ۲۰ ساعت تغییر نیافته و تأثیر نپذیرفت. در این گزارش مایکوبوتانیل و استریپتومايسين هیچ گونه تأثیر

با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. همچنین در این آزمایش ها سموم ارزیابی شده برای سیب شامل کاپتان، مایکوبوتانیل و استریپتومايسين و برای بادام آزوکسی-تروبین، مایکوبوتانیل، ایپرودیون و سیپرودیون نشان داده که کاپتان به طور معنی دار جوانه زنی گرده را

برمرفولوژی و رشد دانه‌گرده و کلاله اثر کرده و در نهایت باعث کاهش تشکیل میوه گردد. تمام قارچ‌کش‌های مورد استفاده در این تحقیق باعث تغییر در رشد و نمو دانه‌گرده و تغییر در کلاله (مادگی) گل‌ها گردید. به طور معمول قارچ‌کش‌ها اثرات نامطلوبی بر جوانه زنی دانه‌گرده داشتند که باعث کاهش جوانه زنی دانه‌های گرده، لوله‌های گرده کوتاه، تیره و ضعیفی داشتند به طوری که بیشترین جوانه زنی دانه‌های گرده در محیط کشت شاهد (فاقد قارچ‌کش) و سومی ایت یک درصد بود و کمترین جوانه زنی دانه‌های گرده مربوط به قارچ‌کش‌های بیم (دو در هزار) و دینوکاپ (یک و دو در هزار) و کربوکسی‌تیرام (دو در هزار) به دست آمد. در بررسی مادگی‌ها با میکروسکوپ فلورسنت اثرات قارچ‌کش‌ها بر روی مادگی‌های مورد مطالعه و کلاله‌ها مشاهده گردید که باعث ایجاد حالت پژمردگی و بدشکلی مادگی‌ها شده و به نظر می‌رسید قارچ‌کش‌ها باعث ایجاد سوختگی سطح کلاله گردیده است که با افزایش غلظت قارچ‌کش‌ها این سوختگی‌ها بیشتر به نظر می‌رسید. تغییرات در دانه‌های گرده، همچنین تغییرات در سطح کلاله، منجر به کاهش ترشحات کلاله‌ای و کاهش رشد دانه‌گرده در قسمت‌های مادگی شده که در نهایت بر تشکیل میوه نهایی تأثیر می‌گذارد.

معنی‌داری بر رشد لوله‌گرده نداشته‌اند (یای و همکاران ۲۰۰۳a).

در نتیجه‌گیری کلی از این آزمایش می‌توان اظهار داشت که تأثیر قارچ‌کش‌های انتخابی با غلظت‌های متفاوت، بر برمرفولوژی و آناتومی دانه‌های گرده و رشد لوله‌گرده متفاوت بود که با افزایش غلظت قارچ‌کش‌های انتخابی این تغییرات بیشتر بوقوع پیوست. در تیمار با قارچ‌کش سومی ایت یک در هزار دانه‌های گرده دارای لوله‌گرده بلند کشیده و دانه‌گرده شفاف بود در حالی که در تیمار با قارچ‌کش کربوکسی‌تیرام دو در هزار، بیم (یک و دو در هزار)، دینوکاپ دو در هزار دانه‌های گرده تیره بوده و لوله‌گرده ضعیف و کوتاهی به دست آمد. بالاترین درصد تشکیل میوه با تیمار سومی ایت یک در هزار با میانگین ۲۷/۷۸ درصد و کمترین درصد تشکیل میوه با تیمار بیم یک و دو در هزار و دینوکاپ دو در هزار بدون تشکیل میوه در مقایسه با شاهد که ۳۸/۲۱ درصد بود به دست آمد. مصرف قارچ‌کش‌هایی مثل دینوکاپ با غلظت‌های یک و دو در هزار و کربوکسی‌تیرام دو در هزار در مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که این قارچ‌کش‌ها باعث بدشکلی و دفورمه شدن مادگی و سوزش شدید سطح کلاله می‌گردد. به طوری که سطح کلاله کدر و سیاه گردیده بود. کاربرد قارچ‌کش در گل‌دهی و گرده‌افشانی می‌تواند به طور مستقیم



شکل ۳- رشد لوله‌گرده و سطح کلاله در تیمار قارچ‌کش بیم دو در هزار تحت مطالعه با میکروسکوپ فلورسنت.



شکل ۴- رشد لوله گرده و سطح کلاله در تیمار شاهد تحت مطالعه با میکروسکوپ فلورسنت.

جدول ۲- شمارش دانه های گرده در قسمتهای مختلف مادگی بادام رقم فرانسس.

تیمار	میانگین درصد دانه گرده جوانه زده در سطح کلاله	میانگین تعداد لوله گرده در یک دوم بالای میان خامه	میانگین تعداد لوله گرده در یک دوم پایین میان خامه
شاهد	۴۵a	۱۶/۶۵a	۳/۱۵a
somi 1	۳۷b	۱۰/۳6b	۱/۸۵b
tio 5	۳۰c	۶/۹c	۰/۹c
tio 10	۲۴d	۴/۸d	۰/۴۸cd
somi 2	۱۹e	۲/۶۶e	۰/۳۸ cd
oxi 1.5	۱۶f	۱/۹۲ef	۰/۳۲ cd
ben 0.5	۱۵f	۱/۶۵f	۰/۳۰ cd
tec 1	۱۶f	۱/۹۲ef	۰/۱۶d
ct 1	۱۲g	۰/۹۶fg	۰/۱۲d
tec 2	۸h	۰/۴۸fg	۰/۸d
oxi 3	۹h	۰/۵۲fg	۰/۸d
ben 1	۸h	۰/۴۰g	۰/۸d
dino 1	۷h	۰/۲۸g	۰/۷d
beam 1	۰i	۰ gh	۰e
beam 2	۰i	۰ gh	۰e
ct 2	۰i	۰ gh	۰e
dino 2	۰i	۰ gh	۰e

میانگین های با حروف مشابه دارای اختلاف معنی دار در سطح یک درصد نمی باشند.

Dino = Dinocap؛ تیوفانات
Azad=Control = سومی ایت؛ شاهد = Somi 1 = Sumi-eight = اکسی کلرور؛
Copper oxychloride=oxi؛ دینوکاپ؛
Dino = تیوفانات؛
tuo=Thiophanate-methyl؛ تیمیم = Beam=bim = بنومیل؛
ben=Benomyl؛
tec= Tecto؛
Tec= تکتو؛
ct= Carboxin thiram؛
تیرام؛
ct= یک در هزار).

منابع

- Bound SA and Jones KM, 2004. Ammonium thiosulphate as a blossom thinner of 'Delicious' apple, 'Winter Cole' pear and 'Hunter' apricot. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44: 931-937.
- Butt DJ, Swait AA, Joyce J and Robinson JD, 1985. Effect of fungicides on germination of apple and pear pollen. *Annual Applied Biology* 106:110-111.
- Bristow PR and Windom GE, 1987. Effects of selected fungicides, insecticides, and adjuvants on *in-vitro* germination of high bushblueberry pollen. *Plant Disease* 71: 326-328.
- Church RM, Cooke BK and Williams RR, 1983a. Testing the toxicity of fungicides to apple pollen. *Journal of Horticultural Science* 58:161-163.
- Church RM, Morgan NG, Cooke BK and Williams RR, 1983b. The effects of spray volume on the toxicity of captan and dinocap to apple pollen in the orchard. *Journal of Horticultural Science* 58: 165-168.
- Church RM and Williams RR, 1978. Fungicide toxicity to apple pollen in anther. *Journal of Horticultural Science* 53: 91-94.
- Church RM and Williams RR, 1983. The effect of pre blossom fungicide sprays on the ability of Cox Orange Pippin apple flowers to produce fruit. *Journal of Horticultural Science* 58: 169-172.
- Cooley DR, 1991. Toxicity of fungicides to apple pollen. *Fruit Notes* 56 (4): 18-19.
- Cooley DR and Green DW, 1994. Does bloom application of apple fungicides affects fruit set? *Fruit Notes* 59 (4): 15-16.
- Facteau TJ and Chestnut NE, 1983. Effect of pyrene and fluoranthene on pollen tube growth in apricot and sweet cherry. *Hort Science* 18: 717-718.
- Fell RD, Rajotte EG and Yoder KS, 1983. Effects of fungicide sprays during apple bloom on pollen viability and honeybee foraging. *Environmental Entomology* 12: 1572-1575.
- He Y, Wetzstein HY and Palevitz BA, 1995. The effects of a triazole fungicide, propiconazole on pollen germination, tube growth and cytoskeletal distribution in *Tradescantia virginiana*. *Sexual Plant Reproduction* 8: 210-216.
- He Y, Palevitz BA and Wetzstein HY, 1996. Pollen germination, tube growth and morphology, and microtubule organization after exposure to benomyl. *Physiology Plant* 96: 152-157.
- Holb IJ, 2008. Influence of pesticide use on flower formation and fertility of some fruit species. *International Journal of Horticultural Science* 14(1-2): 103-106.
- Imani A, Barzegar K, Piri PS and Masomi SH, 2011. Storage of apple pollen and *in-vitro* germination. *African Journal of Agriculture Research* 6(2): 624-629.
- Kopcke D, Baur P and Schonerr J, 2002. Inhibition of the growth of apple pollen by EDTA surfactants and fungicides. *Annals of Applied Biology* 140: 81-86.
- Lacerda CA, Lima JOG, Almeida EC and Oliveria LM, 1994. Pesticides *in-vitro* interference in the germination and in the tube pollen germination and elongation in the tomato plant cultivar Santa CruzCada. *Pesq.Agropec Bras Brasilia* 29: 1651-1656.

- Layne DR and Bassi D, 2008. The peach: botany, production and uses Website: www.cabi.org
- Marcucci MC, Fiorentino M, Cesari A and Fiaccadori R, 1983. The influence of fungicides on the functioning of apple and pear pollen. In: Pollen: biology and implications for plant breeding. (DL Mulcahy and E Ottaviano (eds.)). Elsevier, Amsterdam, pp. 73-80.
- Marcucci MC and Filiti N, 1984. Germination of pear and apple pollen as influenced by fungicides. Gartenbauwiss Ecschaft 49: 28-32.
- Mussen EC and Montague MA, 2004. Fungicide impacts on almond pollen germination and tube elongation through the pistils. Web Site: entomology.ucdavis.edu/faculty/facpage.cfm?mussen.
- Mayer DF and Lunden JD, 1986. Toxicity of fungicides and an acaricide to honey-bees (Hymenoptera: Apidae) and their effects on bee foraging behavior and pollen viability on blooming apples and pears. Environmental Entomology 15: 1047-1049.
- Micke WC, 1996. Almond production manual. Univ. Calif. Div. Agric. Nat. Res. Publ. 3364. 289 pages.
- Nikolov A, Botiyanski P, Kehayov D and Roichev V, 1999. Influence of basic fungicide groups on pollen germination of grape varieties Bolgar and Cabernet Sauvignon. Bulgarian Journal of Agriculture Science 5: 719-724.
- Nichols D, Embree C, Cline J and Ju HY, 2004. Blossom and fruitlet thinners affect crop load, fruit weight, seed number, and return bloom of 'northern spy' apple. Hort Science 39: 1309-1312.
- Olien WC, Miller RW, Graham CJ, Taylor ER and Hardin ME, 1995. Effects of combined applications of ammonium thiosulphate and fungicides on fruit load and blossom blight and their phytotoxicity to peach trees. Journal of Horticultural Science 70: 847-854.
- Ozturk C and Candan F, 2010. The effect of activator application on the anatomy, morphology and viability of *Lycopersicon esculentum* Mill. pollen. Turkish Journal of Biology 34: 281-286.
- Pavlik M and Jandurova OM, 2000. Fungicides cytotoxicity expressed in male gametophyte development in *Brassica campestris* after *in-vitro* application of converted field doses. Environmental experimental Botany 44: 49-58.
- Redalen G, 1980. Effect of fungicides on pollen germination and fruitset in raspberries. Gartenbauwiss Enschaft, 45: 248-251.
- Socias I, Company R, Kester DE and Bradley M V, 1976. Effects of temperature and genotype on pollen tube growth of some self-incompatible and self-compatible almond cultivars. Journal of the American Society for Horticultural Science 101: 490-493.
- Tort N, Ozturk İ and Guvensen A, 2005. Effects of some fungicides on pollen morphology and anatomy of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Pakistan Journal of Botany 37: 23-30.
- Yi W, Law SE and Wetzstein HY, 2003a. Pollen tube growth in styles of apple and almond flowers after spraying with pesticides. Journal of Horticultural Science Biotechnology 78(6): 842-846.
- Yi W, Law SE and Wetzstein HY, 2003b. Fungicide sprays can injure the stigmatic surface during receptivity in almond flowers. Annals of Botany 91: 335-341.
- Yi W, Law SE and Wetzstein HY, 2003c. An *in-vitro* study of fungicide effects on pollen germination and tube growth in almond. Horticultural Science 38: 1086-1088.

- Yi W, Law SE and Wetzstein HY, 2003d. Pollen tube growth in styles of apple and almond flowers after spraying with pesticides. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 78: 842-846.
- Watters BS and Sturgeon SR, 1990. The toxicity of some foliar nutrients and fungicides to apple pollen cv. Golden Delicious. *Annual Applied Biology* 116: 70-71.
- Wetzstein HY, 1990. Stigmatic surface degeneration and inhibition of pollen germination with selected pesticidal sprays during receptivity in pecan. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 115: 656-661.

Effects of Some Fungicides on Pollen Germination, Pollen Tube Growth and Fruit Set in Almond *in-vitro* and *in-vivo* Conditions

Ali Imani*¹ and Ali Zarabi¹

¹ Horticultural Department of Seed and Plant Improvement Institute, Karaj, Iran

*Corresponding author: Imani_a45@yahoo.com

Received: 03 Jul 2013

Accepted: 18 May 2014

Abstract

In order to optimize the fungicide application in almond orchards, the effects of eight different fungicides on the pollen germination, growth of pollen tubes of almond variety “Ferragness” were studied at *in-vitro* and *in-vivo* conditions. In addition, the effects of fungicides on fruit set in orchard condition were investigated. The effects of fungicide application on pollen germination and growth of pollen tubes were studied by using pollen grain culture at *in-vitro* condition. In order to determine fruit set percentage and treated flowers abortion after spray, two times counting of fruit set was carried out. Experiment was designed in complete randomized plan with 3 replications. Growth of pollen tubes in pistil after pollination was studied by using fluorescence microscope (UV). For this purpose, to check the status of pollen germination on the stigma and pollen tube penetration levels in different parts of the style, samples of flower were taken and fixed in FAA. Results showed that the fungicides affected pollen germination differently at *in-vitro* condition. The most pollen germination was observed in control and Sumi-eight (0/001), respectively. The least pollen germination was in Beam (0/002) and Dinocap (0/002). Results of the effects of fungicides on fruit set showed that the highest percentage of fruit set was in Sumi-eight treatment (0/001) with 44.18% and the least percentage of fruit set was in Dinocap treatment (0/002) with 27.97%. While percentage of fruit set in control was 51.72%. Results from pollen growth on the surface of stigma, 1/2 upper part of style and 1/2 lower part of style showed that, the number of germinated pollen grain on the surface of stigma with different fungicides was different, so that, in control, mean number of germinated pollen grain on the surface of stigma was 45%, at the 1/2 upper part of style was 37%, for the lower part of style was 7%, while in Sumi-eight treatment of 1 per thousand, mean number of germinated pollen grains on the surface of stigma was 37% and at the 1/2 upper part of style was 28% and lower part of style was 5%. This means that the fungicide has effect on the pollen germination in different parts of pistil.

Keywords: Almond, Fungicide, *Prunus dulcis* (Miller), Pollen germination, Pollination.