

دراسة انتشار حبوب الطلع ونمو الأنبوب الطلعي في الزجاج

عند نبات *Alisma lanceolatum*, wit.

* الدكتور دانيال العوض

** الدكتور سرحان لايقة

*** السيدة دينا حداد

(قبل للنشر في 2002/9/7)

□ الملخص □

سمحت التجارب التي قمنا بها أن نلاحظ تأثير السكروز، الحرارة، البور، الكالسيوم ودرجة الحموضة pH في النسبة المئوية للانتاش، وفي نمو الأنبوب الطلعي. حصلنا على أفضل نسبة مئوية للانتاش (58 %) وأفضل نمو للأنبوب الطلعي (580 ميكرون) على الوسط الأساسي المحدد من قبل [22] وفي درجة الحرارة 25م، ودرجة الحموضة pH=6، وبوجود 100غ/ل من السكروز. درسنا القدرة الانتاشية لحبوب الطلع تبعاً لعمرها، وحصلنا على أفضل نسبة بعد ثلاث ساعات من تفتح البراعم الزهرية ومن ثم انخفضت نسبة الانتاش مع زيادة عمر الزهرة.

كان وجود الكالسيوم والبور في الوسط الأساسي ضرورياً لحادثة الانتاش ولنمو الأنبوب الطلعي، إذ لم نلاحظ حادثة الانتاش على الوسط الأساسي الذي لا يحوي الكالسيوم والبور، ولا في حالة غياب البور فقط منه. كانت نسبة الانتاش منخفضة (15%) وكانت معظم الأنبوب الطلعية منفجرة في حالة غياب الكالسيوم.

*مدرس في قسم علم الحياة - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية .

**أستاذ في قسم علم الحياة - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية .

***طالبة دكتوراه في قسم علم الحياة - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

Etude de la germination(in vitro) des grains de pollen et ,de la croissance du tube pollinique chez *Alsimia lanceolatum*, wit.

Dr. Daniel Al awad *
Dr. Sarhan Layka **
Mme Dina Haddad ***

(Accepted 7/9/2002)

□ Résumé □

Nos essais nous permis de constater les influences des Saccharose, température, bore,calcium ,pH,âge des pollens,sur le taux de germination . Le meilleur pourcentage de germination (58%) etla meilleure croissance du tube pollinique (580micron)ont été obtenus sur le milieu de base proposé par [22] en présence de 100 g /l de saccharose età la température 25 c° et, au pH=6 .

Nous avons étudié l'aptitude à germer du pollen en fonction de son âge . On a obtenu un taux optimal de germination avec des pollens prélevés 3 heures après la déhiscence des boutons floraux.Ensuite,le taux diminue avec le vieillissement des fleurs. La présence de calcium et de bore a été nécessaire à la germination des pollens età la croissance du tube pollinique. On n'a pas constaté la germination sur le milieu de base qui ne contient pas de calcium et de bore, ou en absence de bore seule. En absence de calcium,le pourcentage de germination a été faible (15%) et, la plupart des tubes polliniques ont éclaté.

* Enseignant au Département , de biologie ,Faculté des sciences , UniversitéTichrine, Lattaquié,Syrie
**Professeur au Département , de biologie ,Faculté des sciences , UniversitéTichrine, Lattaquié,Syrie
*** Etudiante de doctorat au ,Département de biologie ,Faculté des sciences , Université deTichrine, Lattaquié,Syrie

□ المقدمة:

يبدأ تشكل حبوب الطلع انطلاقاً من الخلايا الأم التي تتوضع في المآبر، وبعد نضج هذه الأخيرة تتحرر منها وتنقل بوسائل مختلفة إلى المياسم، و عندما تتم عملية الإلقاح تتشكل البذور التي تحافظ على استمرارية النوع النباتي. تبقى حبوب الطلع المتحررة من المآبر حية خلال مدة طويلة أو قصيرة وذلك حسب النوع المدروس [1]. إن قدرة حبوب الطلع على الانتاش لا تتعلق تماماً بحياتها لأنه إذا كانت شروط الوسط غير ملائمة لا يتم انتاشها [2] وإذا فقدت قدرتها على الانتاش تصبح غير صالحة للإلقاح [1]. بالمقابل توجد علاقة متبادلة بين حياتها واستطاعتها على الانتاش [3].

بين الباحثون أن هناك عدة عوامل تؤثر في إنتاش حبوب الطلع، فقد أشار [7،6،5،4] إلى دور السكر، و [10،9،8] إلى تأثير الحرارة، و بين [13،12،11] أهمية الـpH، بينما [16،15،14] لاحظوا دور عمر الزهرة وحبوب الطلع. بالإضافة إلى ذلك بين [18،17] أن وجود الكالسيوم والبور في وسط الانتاش كان ضرورياً لزيادة نسبة إنتاش حبوب الطلع ولنمو الأنبوب الطلعي، ولاحظ [19] تأثير البور في تحسين نسبة الانتاش بينما أشار [20] إلى تأثير هذا العنصر في نمو الأنبوب الطلعي.

تلعب النباتات المائية التي يعتبر جنس *Alisma* من أحد أجناسها دوراً مهماً ضمن إطار دراسات التنوع الحيوي والبيئي في بلادنا. تم استخدام ريزوم *Alisma* الجاف، الغني بالنشاء، في بعض البلدان كطعام وكعلاج لداء الكلب، وكذلك استخدمت خلاصة أوراق هذا النبات لعلاج صداع الرأس [21]. إن ندرة الأبحاث المتعلقة بدراسة تأثير العوامل المذكورة سابقاً في إنتاش حبوب الطلع عند النباتات المائية تعطي أهمية أيضاً لهذا البحث يتوجب معها القيام بمساهمة لدراسة تأثير هذه العوامل في إنتاش حبوب الطلع عند *Alisma* الذي ينمو في البيئة الساحلية.

المواد والطرائق:

1- المادة النباتية:

نبات *Alisma lanceolatum*، هو نبات عشبي يعيش في المستنقعات والمياه الضحلة وعلى ضفاف البحيرات والتراب زائدة الرطوبة، يبلغ ارتفاعه 80-100سم، وينتمي إلى فصيلة (*Alismataceae*)، أوراقه رمحية الشكل، أزهاره خنثوية منتظمة، يتألف الكم من ثلاث سبلات خضراء وثلاث بتلات، ويتألف المذكر من 6 أسدية، يبلغ عدد الكرابل حوالي 15 كريله حرة، وتحوي كل كريله على بويضة واحدة، البذرة الناضجة عديمة السويداء، الثمرة أكينية (الشكل: A-2).

2- الطرائق:

2-1 وسط الانتاش

تم استخدام الوسط الأساسي حسب [22] والذي يتركب من:

السكر (100 غ/ل)، H_3BO_3 (100 مغ/ل)، $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (300 مغ/ل) $Mg SO_4 \cdot 7H_2O$ (200 مغ/ل)، KNO_3 (100 مغ/ل)، آغار (10 غ/ل). بعد تحضير الوسط، ضبطت درجة حموضته (pH=6) وتم تسخينه ثم سكب في أطباق بتري قطرها 10 سم، بعد ذلك تم تعقيم هذه الأطباق في جهاز التعقيم بدرجة 120م° ولمدة 20 دقيقة.

2-2 دراسة عملية الانتاش:

تم أخذ حبوب الطلع من الأزهار قبل وبعد تفتحها، ثم نثرت على وسط الانتاش في أطباق بتري. بعد ذلك أضفنا 1/2 مل من وسط الانتاش، بشكل سائل، إلى الطبق ومن ثم تم تحريكه من أجل توزيع حبوب الطلع بشكل متجانس على وسط الانتاش الجامد. وضعت هذه الأطباق في الظلام ضمن حاضنة خاصة وبدرجات حرارة مختلفة. تم حساب النسبة المئوية للانتاش لمعظم التجارب بعد ربع ساعة، ساعة، ساعتين، ثلاث ساعات، و ذلك من أجل معرفة الزمن الأفضل للحصول على أعلى نسبة إنتاش. حسبت هذه النسبة بعد تقسيم طبق بتري إلى أربع أجزاء متساوية ومن ثم عدّ 50-70 حبة طلع منتشة وغير منتشة في كل جزء من

هذه الأجزاء وذلك تحت المجهر الضوئي. أما من حيث قياس طول الأنبوب الطلعي، تم قياس 10-20 أنبوب طلعي بفترات زمنية مختلفة (ربع ساعة، ساعة، ساعتين، ثلاث ساعات)، وذلك في كل شرط من شروط تجاربنا، وتم ذلك بواسطة عدسة عينية ميكرومترية ومن ثم سُجِّل متوسط الطول.

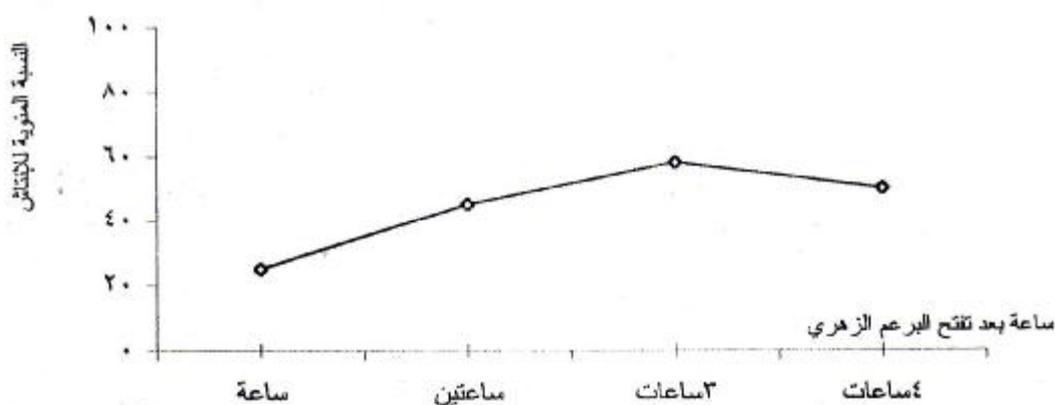
2-3 دراسة تأثير العوامل التالية في النسبة المئوية للانتاش وأطوال الأنابيب الطلعية:

- تأثير السكروز (غ/ل): تمت دراسة تأثير أربعة تراكيز للسكروز (50 غ، 75 غ، 100 غ، 125 غ).
- تأثير الحرارة: وُضعت أطباق بتري التي تحوي على حبوب الطلع في درجات حرارة مختلفة (20م، 25م، 30م).
- تأثير درجة الحموضة pH: قمنا بدراسة أربع درجات مختلفة (4، 5، 6، 7) pH وسط الانتاش المستخدم.
- تأثير البور والكالسيوم: إضافة إلى الوسط الأساسي، قمنا بتحضير أوساط أساسية أخرى مع إجراء بعض التغييرات عليها من حيث تراكيز البور والكالسيوم وذلك على الشكل التالي: بدون بور و كالسيوم، بدون أو مع البور بتركيز (50 مغ/ل، 200 مغ/ل) دون تغيير تركيز الكالسيوم (300 مغ/ل)، بدون أو مع الكالسيوم بتركيزين مختلفين (200 مغ/ل، 400 مغ/ل) دون تغيير تركيز البور (100 مغ/ل).
- تأثير عمر حبوب الطلع: تم أخذ حبوب الطلع قبل تفتح البرعم الزهري بساعة، وأثناء وبعد تفتحه ب(ساعة، ساعتين، ثلاث ساعات، أربع ساعات) ومن ثم نُثرت في أطباق بتري، وذلك من أجل تحديد الزمن الأفضل الذي تكون فيه حبوب الطلع قادرة على الانتاش بنسبة مرتفعة. حسب عمر حبوب الطلع بدءاً من تفتح المآبر وكان ذلك بعد ساعة من تفتح البرعم الزهري.

النتائج:

1- تأثير عمر حبوب الطلع:

بعد تحضير الوسط الأساسي و ضبط درجة حموضته $pH=6$ ، أخذنا حبوب طلع من أعمار مختلفة ونثرناها على هذا الوسط في أطباق بتري. وُضعت هذه الأطباق في درجة الحرارة المثلى (25 م). تبين أنه إذا أُخذت حبوب الطلع قبل تفتح البرعم الزهري أو أثناء تفتحه كان الانتاش معدوماً. بالمقابل لاحظنا انتاش حبوب الطلع بنسبة 25% بعد ساعة من تفتحه حيث يحدث تفتح المآبر، وعندما أخذنا حبوب طلع أخرى بعد ساعتين أو ثلاث ساعات، ارتفعت نسبة الانتاش وعلى الترتيب إلى 45% و 58% ولكن بعد ذلك بدأت نسبة الانتاش بالانخفاض، 50% بعد أربع ساعات، مع زيادة عمر حبوب الطلع.



الشكل (1) تأثير عمر حبوب الطلع في النسبة المئوية للانتاش

2- تأثير السكروز ودرجة الحرارة في النسبة المئوية لانتاش حبوب الطلع:

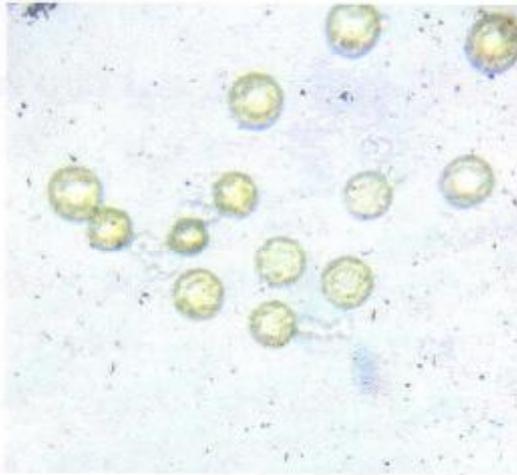
قمنا باستخدام تراكيز مختلفة من السكروز إضافة للتركيز المذكور في المحلول الأساسي، وجربنا درجات حرارة مختلفة، وكانت درجة الـ pH=6 لجميع الأوساط المستخدمة في هذه التجربة. يبين الجدول (1) تأثير هذه التراكيز ودرجات الحرارة المختلفة في نسبة انتاش حبوب الطلع. نلاحظ أن النسبة المئوية لانتاش تزداد مع زيادة تركيز السكروز أي (50 غ/ل، 75 غ/ل، 100 غ/ل) بينما في التركيز (125 غ/ل) بدأت النسبة المئوية لانتاش بالانخفاض وكان ذلك في درجات الحرارة الثلاث المستخدمة (20م، 25م، 30م). ففي درجة الحرارة 20م، كانت النسبة المئوية لانتاش 6% عندما كان تركيز السكروز 50 غ/ل وارتفعت إلى 23% في التركيز 75 غ/ل ومن ثم إلى 49% في التركيز 100 غ/ل، ثم انخفضت إلى 37% عندما أصبح تركيز السكروز 125%. أما في درجة الحرارة 25م، كانت النسبة المئوية لانتاش 8% عند إضافة 50 غ/ل من السكروز، وارتفعت إلى 29% في التركيز 75 غ/ل من السكروز وحصلنا على أفضل نتيجة 58% عندما ازداد تركيز السكروز إلى 100 غ/ل (الشكل 2-B) بينما انخفضت النسبة إلى 46% في التركيز 125 غ/ل. وعندما وُضعت أطباق بتري الحاوية على حبوب الطلع في الدرجة 30م، انخفضت النسب المئوية لانتاش مقارنة بنظيراتها في الدرجتين 20م و 25م ولنفس تراكيز السكروز، وكان هذا الانخفاض واضحاً مقارنة مع الدرجة 25م حيث انخفضت النسب المئوية لانتاش إلى 20% و 43% و 33% وعلى الترتيب في التراكيز 125، 100، 75 غ/ل.



B (X=240)



A



C (X=120)

الشكل: ٢- A - الشكل العام لنبات الـ *Alisma*
 B- انتشار حبوب الطلع على الوسط الاساسي لـ BREWBAKER and KWACK
 C- انفجار الاثاييب الطلعية لحبوب الطلع المنتشرة على الوسط الاساسي لـ BREWBAKER and KWACK الذي لا يحوي على الكالسيوم بعد ساعة من الحضارة.

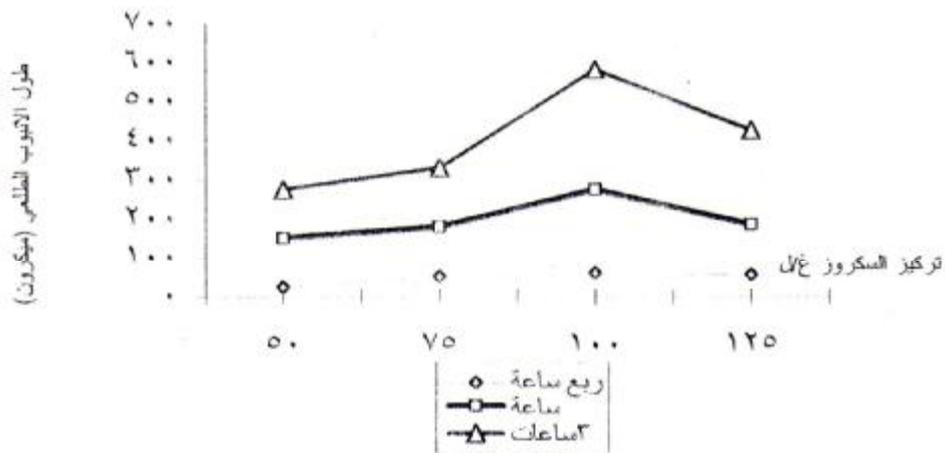
{ ٧ }

درجة الحرارة	تركيز السكروز غ/ل	النسبة المئوية للانتاش
20م	50	6
	75	23
	100	49
	125	37
25م	50	8
	75	29
	100	58
	125	46
30م	50	5
	75	20
	100	43
	125	33

جدول (1): تأثير تركيز السكروز ودرجة الحرارة في النسبة المئوية للانتاش حبوب الطلع

3- تأثير تركيز السكروز في أطوال الأنابيب الطلعية:

درسنا هذا التأثير على الوسط الأساسي للانتاش وفي الشروط المثلثي للحرارة (25م)، ودرجة الحموضة (pH=6). والشكل (3) يوضح النتائج التي حصلنا عليها. نلاحظ من خلال هذا الشكل أن أطوال الأنابيب الطلعية تزداد مع ازدياد تركيز السكروز (50، 75، 100 غ/ل)، ومع ازدياد الزمن الذي تم فيه قياس هذه الأطوال (ربع ساعة، ساعة، ثلاث ساعات) بعد وضع أطباق بتري في الحاضنة. حصلنا على أفضل النتائج وفي جميع أزمان القياس عندما أضفنا 100 غ/ل سكروز إلى وسط الانتاش حيث كان متوسط طول الأنبوب الطلعي 580 ميكرون بعد ثلاث ساعات من الحضانة. بينما عندما ارتفع التركيز إلى 125 غ/ل لاحظنا أن أطوال الأنابيب كانت أقل من نظيرتها في التركيز 100 غ/ل.



الشكل (3) تأثير تركيز السكروز في أطوال الأنابيب الطلعية بعد أزمان مختلفة من وضع أطباق بتري في الحاضنة

4- تأثير درجة الحموضة pH:

يبين الجدول (2) النتائج التي حصلنا عليها، حيث كانت نسبة الانتاش معدومة في درجة الحموضة المنخفضة (4=pH) بينما عندما ارتفعت درجة pH إلى (5) ومن ثم إلى (6)، لاحظنا تحسناً في نسب الانتاش وأطوال الأنايبب الطلعية. حصلنا على أفضل النتائج في درجة الحموضة (6=pH)، لكن عندما ارتفعت وأصبحت (7=pH) انخفضت نسب الانتاش وأطوال الأنايبب الطلعية مقارنة مع النتائج عندما كانت (6=pH).

النسبة المئوية للانتاش	متوسط أطوال الأنايبب الطلعية (مكرون) بعد أزمان مختلفة من وضع أطباق بتري في الحاضنة				درجة حموضة الانتاش (pH)
	ثلاث ساعات	ساعتان	ساعة	ربع ساعة	
0	0	0	0	0	4
20	265	145	115	25	5
58	580	375	275	60	6
24	420	310	225	40	7

الجدول (2): تأثير درجة حموضة وسط الانتاش في النسبة المئوية لانتاش حبوب الطلع وفي متوسط أطوال الأنايبب الطلعية.

5- تأثير البور والكالسيوم:

يبين الجدول (3) أن الكالسيوم والبور ضروريان لانتاش حبوب الطلع ولتشكل الأنايبب الطلعية. ففي الوسط الذي لا يحوي البور ولا الكالسيوم أو الذي لا يحوي البور كان الانتاش معدوماً، بينما في حالة غياب الكالسيوم من الوسط كان متوسط أطوال الأنايبب الطلعية ونسبة الانتاش أقل مما لاحظناه في بقية الأوساط. بالإضافة إلى ذلك، لاحظنا انفجار معظم الأنايبب الطلعية المتشكلة على الوسط الذي لا يحوي الكالسيوم (الشكل 2-C). أما عندما أضفنا البور بتركيز (50 مغ/ل) أو (200 مغ/ل) إلى الوسط لم نلاحظ أي تحسن في النتائج مقارنة مع الوسط الأساسي الأصل، ولكن كانت النتائج في التركيز الأكبر أفضل منها في التركيز الأقل وخاصة فيما يتعلق بنسبة الانتاش. أما فيما يتعلق بالكالسيوم، لم نلاحظ عند إضافة تركيز أقل (200 مغ/ل) أو أكثر (400 مغ/ل) من تركيز الوسط الأفضل (300 مغ/ل) فروقاً مهمة في النتائج من حيث أطوال الأنايبب بل ارتفعت نسبة الانتاش من 25% إلى 35%. في جميع الحالات كانت هذه النتائج أقل من نظيراتها على الوسط الأساسي الأصل حيث كان متوسط طول الأنايبب الطلعي (580 ميكرون) ونسبة الانتاش (58%) بعد ثلاث ساعات من الحضانة.

النسبة المئوية للانتاش	متوسط أطوال الأنايبب الطلعية (مكرون) بعد أزمان مختلفة من وضع أطباق بتري في الحاضنة				الوسط الأساسي للانتاش	
	ثلاث ساعات	ساعتان	ساعة	ربع ساعة	تركيز البور مغ/ل	تركيز الكالسيوم مغ/ل
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	300	0
20	510	320	215	40	300	50

30	525	340	230	45	300	200
15	390	275	210	35	0	100
25	520	350	245	50	200	100
35	550	360	250	55	400	100

جدول(3): تأثير تركيزي البور والكالسيوم في النسبة المئوية للانتاش وفي متوسط أطوال الأنابيب الطلعية وذلك في الشروط المثلى لتجارينا .

المناقشة:

تشير دراستنا هذه أن هناك عدة عوامل تؤثر في نسبة إنتاش حبوب الطلع وفي متوسط أطوال الأنابيب الطلعية، وأن أفضل النتائج كانت على الوسط الأساسي [22]. كانت نتائجنا تؤكد أو تتوافق أحياناً مع نتائج بعض الباحثين وأحياناً أخرى لم تتوافق وذلك بالنسبة لأنواع مختلفة من النباتات.

1- تأثير عمر حبوب الطلع:

لاحظنا من خلال دراستنا أن عمر حبوب الطلع لعب دوراً مهماً في نسبة انتاش هذه الحبوب، وأن أفضل نسبة انتاش كانت بعد ثلاث ساعات من تفتح البراعم الزهرية، لكن بعد ذلك بدأت النسبة بالانخفاض مع ازدياد عمر الزهرة. حصل [15] على أفضل نتيجة لانتاش حبوب الطلع (91،2%) عندما أخذ هذه الحبوب من الأزهار أثناء تفتحها، بالمقابل انخفضت هذه النسبة مع زيادة زمن حفظ حبوب الطلع في الدرجة 4 م حيث وصلت إلى 66،9% بعد أربعة أسابيع من حفظها. ولاحظ [16] أيضاً أن نسبة الانتاش كانت تتخفف كلما ازداد عمر الزهرة وكذلك كان طول الأنبوب الطلعي أقصر منه عند حبوب الطلع المأخوذة من زهرة حديثة التفتح. بينت نتائج [23] أن نسبة الانتاش كانت تزداد كلما اقترب البرعم الزهري من التفتح وكذلك بعد التفتح.

2- تأثير السكر والحرارة:

لاحظنا من خلال الجدول (1) تأثير السكر في نسبة الانتاش، حيث ارتفعت هذه النسبة مع زيادة تركيز السكر من 50 غ/ل إلى 75 غ/ل ومن ثم إلى 100 غ/ل والذي أعطى أفضل النتائج، ولكن عند إضافة 125 غ/ل من السكر إلى وسط الانتاش انخفضت النسبة مقارنة مع نظيرتها بوجود 100 غ/ل، بالمقابل كانت أفضل من تلك التي حصلنا عليها عند إضافة 50 غ/ل و 75 غ/ل إلى وسط الانتاش. شاهدنا تأثير السكر أيضاً في طول الأنبوب الطلعي، إذ كان يزداد طول الأنبوب طردياً مع زيادة تركيز السكر وزمن الحضانه. توضح هذه النتائج دور السكر في تأمين الطاقة، وتنظيم الضغط الحلوي، ومساهمته في تشكل الغلاف الخلوي للأنبوب. تمت ملاحظة تأثير السكر في نسب الانتاش من قبل عدة باحثين حيث لاحظ [2] أن أفضل نتيجة للانتاش كانت 79،8% عندما استخدم التركيز 200 غ/ل، وانخفضت النسبة إلى 59،6% عندما ازداد تركيز السكر إلى 267 غ/ل، ووصلت نسبة الانتاش إلى 1% عندما كان تركيز السكر 400 غ/ل. تم الحصول على أفضل نسبة انتاش لحبوب الطلع عندما أضاف [5] 34 غ/ل من السكر إلى وسط الانتاش، بالمقابل كان التركيز 137 غ/ل هو الأفضل لنمو الأنبوب الطلعي. وقد وجد [6] أن التركيز 120 غ/ل من السكر أعطى أفضل نتيجة للانتاش (25%) ولكن انخفضت هذه النسبة إلى (10%) عندما ازداد التركيز إلى 300 غ/ل. وحصل [11] على أفضل نسبة انتاش (96%) لإحدى السلالات المستخدمة في التجربة عندما أضاف 200 غ/ل إلى وسط الانتاش وانخفضت النسبة إلى (74%) بوجود التركيز 100 غ/ل حتى وصلت إلى (64%) بإضافة 50 غ/ل، وبين هذا الباحث أيضاً أن التراكيز المنخفضة أدت إلى تشكل أنابيب طلعية غير عادية. وعندما درس [19] تأثير السكر في انتاش حبوب الطلع، لاحظ أن أفضل نسبة انتاش كانت (98%) بوجود التركيز 90 غ/ل ولكن انعدمت هذه النسبة عندما أضاف 300 غ/ل إلى وسط الانتاش. لم يلاحظ [24] التأثير المهم لتركيز السكر في نسب الانتاش للسلالة الواحدة عندما استخدم تراكيز مختلفة (100، 150، 200 غ/ل). وكذلك لم يشير [25] إلى فروق مهمة في نسب الانتاش خلال دراسته، في شهر أيلول، لتأثير ثلاثة تراكيز من السكر (50، 100، 150 غ/ل) في انتاش حبوب الطلع، بالمقابل كان التركيز 150 غ/ل هو الأفضل لنمو الأنبوب الطلعي. أما فيما يتعلق بتأثير درجة الحرارة (جدول: 1) لاحظنا أن أفضل النتائج للانتاش

كانت في الدرجة 25م مع مختلف تراكيز السكروز المستخدمة، ولاحظنا أيضاً أن انخفاض درجة الحرارة إلى 20م أو ارتفاعها إلى 30م لم يحسن من نسبة الانتاش. لقد بين [5] أن نسبة الانتاش كانت ضعيفة جداً في الدرجة 15م ولكنها ارتفعت بسرعة عندما وصلت درجة الحرارة إلى 25م، بالمقابل انخفضت النسبة في الدرجة 30م وانعدمت في الدرجة 40م. لاحظ [8] أن أعلى نسبة انتاش ظهرت في الدرجتين 25 و29م وذلك حسب السلالة المستخدمة. أشار [26] إلى انخفاض نسبة الانتاش في درجة الحرارة الأقل من 15م، بينما لاحظ هذا الباحث أن النمو الأفضل للأنبوب الطلعي كان في الدرجة 25م. وعندما درس [27] تأثير درجة الحرارة في انتاش حبوب الطلع وفي نمو الأنبوب الطلعي، لاحظ أنه لم تنتش حبوب الطلع في درجة حرارة أقل من 14م بينما كانت أعلى نسبة انتاش في الدرجتين 27م و33م وذلك حسب الصنف المستخدم في التجربة، وبين أيضاً أن أفضل نمو للأنبوب الطلعي كان في الدرجتين 32م و33م.

3- تأثير درجة الحموضة pH:

يبين الجدول (2) أن درجة الحموضة لوسط الانتاش تلعب دوراً مهماً في تحسين الانتاش ونمو الأنبوب الطلعي. ففي درجة الحموضة المنخفضة (pH=4) كانت نسبة الانتاش معدومة ولكنها ارتفعت في درجة (pH=6)، حيث كانت أفضل نسبة 58%، مقارنة مع تلك في الدرجة (pH=5) وفي الدرجة (pH=7). حصل [2] على أفضل النتائج عندما كانت درجة pH مرتفعة وذلك حسب الوسط المستخدم في التجربة حيث كانت نسبة الانتاش 83% عندما كانت pH=8,2. وعندما درس [13] تأثير درجة pH في نسبة الانتاش ونمو الأنبوب الطلعي، لم يلاحظ حادثة الانتاش في درجة pH=4 ولا في درجة pH=8 فما فوق بل كانت أفضل نسبة انتاش (59%) في درجة pH=5,5 وكذلك كانت هذه الدرجة هي الفضلى لنمو الأنبوب الطلعي. حصل [31] على نسبة انتاش 90% عندما كانت درجة pH=9 ولكن عندما ارتفعت وأصبحت pH=9,8 انخفضت نسبة الانتاش إلى 12%.

4- تأثير الكالسيوم والبور:

لاحظنا من خلال الجدولين (1،2) أنه بوجود التركيز الأمثل للكالسيوم والبور في وسط الانتاش حصلنا على أفضل النتائج وذلك من حيث نمو الأنبوب الطلعي والنسبة المئوية لانتاش حبوب الطلع مقارنة مع النتائج في الجدول (3)، وهذا يشير إلى أنهما ضروريان لحادثة الانتاش. يلعب الكالسيوم دوراً مهماً في تشكل الأنبوب الطلعي حيث يرتبط بالمواد البكتية لغللاف الأنبوب الطلعي وهذا يؤدي إلى زيادة قساوة الغلاف وبالتالي يقلل من عملية انفجاره. وكذلك يساهم البور في سرعة امتصاص السكروز واستقلابه وذلك عن طريق تشكل معقد بورات - سكريات السريع الامتصاص [28]. إن إضافة الكالسيوم والبور إلى وسط الانتاش أدت إلى ارتفاع النسبة المئوية للانتاش ولطول الأنبوب الطلعي [29]. بين [5] أن البور ضروري لعملية الانتاش حيث لاحظ أن نسبة الانتاش ارتفعت بسرعة عندما ازداد تركيز البور من الصفر إلى 10مغ/ل، وحصل على أفضل نتيجة عندما كان التركيز بين 10-100مغ/ل. كانت النتيجة مشابهة من حيث تأثيره في نمو الأنبوب الطلعي. وعندما تجاوز تركيز البور 100مغ/ل، توقف الانتاش ونمو الأنبوب الطلعي. لاحظ [13] أن نسبة الانتاش كانت 80% بعد أربع ساعات من الحضانه على وسط الانتاش الذي لا يحوي البور ولكن معظم حبوب الطلع كانت تملك أنبوباً قصيراً، و76% من الحبوب المنتشة كانت ذات أنابيب منفجرة. بالمقابل أوضح هذا الباحث أن الكالسيوم أيضاً ضروري للانتاش، حيث كانت نسبة الانتاش 2% في الوسط الذي لا يحوي على الكالسيوم، وكانت الأنابيب الطلعية قصيرة، بينما بوجود الكالسيوم ارتفعت النسبة إلى 87% وحصل على أفضل نتيجة من حيث طول الأنبوب الطلعي. أشار [19] إلى أن البور كان مهماً جداً لانتاش حبوب الطلع في الزجاج حيث حصل على أفضل نتيجة (98%) بوجود 500مغ/ل في وسط الانتاش بينما انعدمت النسبة عندما ارتفع التركيز إلى (600 و 700مغ/ل). كان دور البور واضحاً عندما لاحظ [30] أن معظم حبوب الطلع انتشت بشكل أفضل في الأوساط التي تحوي 10-30مغ/ل من البور. أشارت هذه الدراسة إلى الشروط المثلى لعملية الانتاش، وإلى الأدوار المهمة لتركيز السكروز، للحرارة، للكالسيوم، للبور، لدرجة الحموضة، ولعمر الزهرة في انتاش حبوب الطلع ونمو الأنبوب الطلعي. سمحت هذه الدراسة أيضاً أن نحكم على القدرة الانتاشية لحبوب الطلع بعيداً عن أي تفاعل بينها وبين المياسم.

.....

- [1] DUMAS,C.,CLARKE,A.E., KNOX,R.B.,1984-La fécondation des fleurs.La Recherche,161,1518-1526.
- [2] MESQUIDA ,J., RENARD ,M. et MESQUIDA,B.,1987-Etude préliminaire sur la germination "in vitro" du pollen de colza(*Brassica napus* L.var.oleifera Metzger) et sur l'évolution dans le temps de son aptitude à germer .Agronomie, 7(6),409-416.
- [3] SHIVANNA,R.,and HESLOP-HARRISON,J.,1981-Membrane state and pollen viability.Ann.Bot.,47,759-770.
- [4] HO,R.H., and SZIKLAI, O.,1971-Germination and development of lodgepole Pine pollen in vitro.Can.J.Forest Res,1,12-19.
- [5] SFAKIOTAKIS,E.M.,1978-Germination in vitro of Carob(*Ceratonia siliqua* L.) pollen.Z.pflanzenpHysiol,Bd.89.S,443-447.
- [6] MATHIEU,A.,DE BROUWER,K.,et TILQUIN,J.P.,1983-De la pollinisation à la fécondation dans le genre FUCHSIA-I-Germination (in vitro) du pollen. Bull. Soc. Roy. Bot. Belg., 116,11-18
- [7] CHI,H.S., and CLEMENT,C.2000-Effect of sucrose treatment and PHotosynthesis on anther sugars accumulation and pollen germination in *Lilium X Enchantment* during in vitro maturation. J.chiayi U.J.Chiayi Inc.Tec.70,43-59.
- [8] POLITO,V.S.,LUZA,J.G.and WEINBAUM,S.A.,1988- Differential low-temperature germination responses by pollen of *Pistacia vera* clones with different bloom dates.Scientia Hort.,35,269-274
- [9] YATES,I.E.,1989-Hydration and temperature influence in vitro germination of pecan pollen.J.Amer.Soc.Hort.Sci.,114(4),599-605.
- [10] KRISTJANSDDOTTIR, I.S.,1990-Pollen germination in vitro at low temperature in European and Andean tetraploid Potatoes. Theor .Appl.Genet.,80,139-142
- [11] HALL,G.C.,and R.E.FARMER,JR.,1971-In vitro germination of black walnut pollen.Can.J.Bot.,49,799-802
- [12] ZEIJLEMAKER,F.C.J.,1956-Growth of pollen tubes in vitro and their reaction on potential differences. ACTA.Bot.Neer., 5(2),179-186.
- [13] AL-HELAL,A.A.,1989-Effect of chemicals and pH on in vitro germination of Date palm pollen. Arab Gulf J.Scient.Res.,Agric. Biol.sci.,B7(1),103-111
- [14] JANSSEN,AWB.,and HERMSEN,JGTH.,1976-Estimating pollen fertility in *Solanum* species and haploids.EupHytica,25,577-586.
- [15] JENNIFER,NG.,1982-In-vitro pollen germination of *Cassia fistula* L.Gard. Bull.Sing.,34(2), 239-242
- [16] HENNY,R.J.1988-pollen germination in *Aglaonema* flowers of different ages.Hort.scie., 23(1),218.
- [17] PFAHLER,P.L.,1968-In vitro germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays*) pollen. II. pollen source,calcium,and boron interactions. Can .J.Bot., 46,235-239.
- [18] PFAHLER,P.L.,1970-In vitro germination and pollen tube growth of maize(*Zea mays*) pollen.III.the effect of pollen genotype and pollen source vigor.can.J.Bot.,48, 111-115
- [19] CAUNEAU-PIGOT,A.,1988-Biopalynological study of *Lapageria rosea* and *Iris unguicularis*. Grana, 27,297-312.
- [20] ROBBERTSE,P.J.,LOCK,J.J,STOFFBERG,E.and COETZER,L.A.1990-Effect of boron on directionality of pollen tube growth in *Petunia* and *Agapanthus*.s.Afr.J.Bot.,56(4),487-492.

- [21] TRISKA,J.,1986-Flore d'Europe.GRUND. Paris.
- [22] BREWBAKER,J.L.,and KWACK,B.H.,1963-The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *Amer.J.Bot.*,50(9),859-865.
- [23] VERMA,S.C.,and GREWAL, S.S.,1971- Precocious germination of pollen in *Lathyrus sativus* and its significance. *PHYtomorpHology*, December,362-367.
- [24] POLITO,V.S.,and LUZA,J.G.,1988-Longevity of Pistachio pollen determined by In vitro germination. *J.Amer.Soc.Hort.Sci.*,113(2),214-217.
- [25] BLLANI,L.M.PACINI,E.,and FRANCHI,G.G.,1985-In vitro pollen grain germination and starch content in species with different reproductive cycle.I. *Lycopersicum peruvianum* MILL.*Acta.Bot.Neerl.*,34(1),59-64.
- [26] VASILAKAKIS,M.,and PORLINGIS,I.C.,1985-Effect of temperature on pollen germination,pollen tube growth effective pollination period and fruit set of pear.*Hort.sci.*, 20,733-735
- [27] LUZA,J.G.,POLITO,V.S., and WEINBAUM,S.A.,1987-Staminate bloom date and temperature responses of pollen germination and tube growth in two walnut (*Juglans*) species. *Amer.J.Bot.*,74(12),1898-1903.
- [28] CAMEFORT,h., et BOUÉ,h.,1983-Reproduction et biologie des végétaux supérieurs.doin éditeurs-paris.
- [29] PFAHLER,P.L.,1967-In vitro germination and pollen tube growth of maize (*zea mays* L) pollen .I-calcium and boron effect. *Can.J.Bot.*,45,839-845.
- [30] STANLEY,R.G.and ROBERT,G.,1961-Effect of various forms of boron on pollen germination.*plant.pHysiol.*,15,36-40.
- [31] ROBERTS,I.N.,GAUD,T.C.,HARROD,G., et DICKINSON,H.G.,1983-Pollen-stigma interaction in *Brassica oleracea* a new pollen germination medium and its use in elucidating the mechanism of self incompatibility *Theor.Appl.Genet.*,65(3)231-238.