زهرة حديثة التفتح على ميسم الزهرة المخصية ثم يعاد تكيسيها (Emsweller وآخرون ١٩٣٧) .

تخزين حبوب اللقاح وحيويتها

يتطلب الوضع – أحياناً – تخزين حبوب اللقاح ؛ إما لغرض حفظ الجيرمبلازم ، وإما لكى يمكن إجراء التهجينات اللازمة بين أصناف لاتزهر فى وقت واحد ، أو بين نباتات نامية فى مناطق جغرافية بعيدة عن بعضها ، وتسلك حبوب اللقاح مسلك البذور فى قدرتها على الاحتفاظ بحيويتها فى أثناء التخزين ، وطبيعة استجابتها لمختلف المؤثرات البيئية .

تقسم النباتات – من حيث قدرة حبوب لقاحها على الاحتفاظ بحيويتها فى أثناء التخزين – إلى ثلاث فئات كما يلى :

١– نباتات تحتفظ حبوب لقاحها بحيوتها فترات طويلة ؛ كما فى العائلتين : الوردية ، والبقولية .

٢– نباتات تحتفظ حبوب لقاحها بحيويتها فترات متوسطة ؛ كما فى العائلتين الزنبقية ، والنرجسية .

٣– نباتات تحتفظ حبوب لقاحها بحيويتها فترات قصيرة ؛ كما فى العائلة النجيلية .

تأثير العوامل البيئية فى حيوية حبوب اللقاح المخزنة

تتأثر حيوية حبوب اللقاح المخزنة بالعوامل البيئية التالية :

١– الرطوبة النسبية :

يؤدى نقص الرطوبة النسبية إلى زيادة فترة احتفاظ حبوب اللقاح المخزنة بحيويتها، وتنطبق هذه القاعدة حتى حد أدنى معين للرطوبة النسبية ، يختلف باختلاف الأنواع النباتية ، ويتراوح من ٨ – ٢٥٪ . وتتسبب الرطوبة النسبية الأقل من الحد الأدنى المناسب للنوع النباتى إلى فقدان حيوية حبوب اللقاح ، وربما حدث ذلك نتيجة للأكسدة الذاتية للمواد الدهنية التى توجد بها . وتعرض الرطوبة النسبية الأعلى من ٦٠٪ حبوب اللقاح للإصابة بالنموات الفطرية والبكتيرية . ويزداد الضرر الواقع على حبوب اللقاح عند تذبذب الرطوبة النسبية بين الارتفاع والانخفاض عما لو كانت ثابتة . ويجب رفع رطوبة حبوب اللقاح التى

خزنت فى رطوبة منخفضة من ١٠ - ٣٠٪ قبل استعمالها فى التلقيحات بتركها فى رطوبة نسبية تبلغ ٨٠٪ مدة يوم كامل .

٢- درجة الحرارة

تزداد فترة احتفاظ حبوب اللقاح المخزنة بحيويتها ، كلما كانت الحرارة أقرب إلى درجة التجمد . كما أمكن تخزين حبوب اللقاح فى درجة حرارة تراوحت من -١٨٠° م إلى -١٩٠°م دون أن يحدث لها أى ضرر . وخزنت حبوب لقاح النوعين *Pyrus malus* ، و *P. communis* مدة ٣٢٨٧ يوماً فى حرارة تراوحت من - ١٧°م إلى - ٣٧°م دون أن تفقد حيويتها . كذلك أمكن حفظ حبوب اللقاح بالتجفيد freeze drying .

٣- العوامل البيئية الأخرى :

تزداد فترة احتفاظ حبوب اللقاح المخزنة بحيويتها ؛ بخفض تركيز الأكسجين ، وزيادة تركيز ثانى أكسيد الكربون فى هواء المخزن . إلا أن التعرض للضوء - خاصة الأشعة فوق البنفسجية - يحدث أضراراً لحبوب اللقاح المخزنة (عن Johri & Vasil ١٩٦١ ، وHarrington ١٩٧٠ ، و Roberts ١٩٧٥) .

أسباب تدهور حيوية حبوب اللقاح عند التخزين

من الأسباب المحتملة لتدهور حيوية حبوب اللقاح عند التخزين ما يلى :

١- استنفاذ المواد الغذائية التى توجد بحبة اللقاح فى التنفس .
٢- توقف نشاط بعض الإنزيمات .
٣- الجفاف .
٤- تراكم نواتج أيضية ثانوية .
٥- حدوث تغيرات فى المواد الدهنية بالأغشية الخلوية لحبة اللقاح .

وتبدو حبوب اللقاح المخزنة -أحياناً- كما لو كانت ميتة ، إلا أنها تستعيد حيويتها إذا وضعت فى رطوبة مرتفعة لعدة أيام . وتتطلب حبوب اللقاح المخزنة تركيزات أعلى من السكريات ؛ لكى تنبت . وإذا كانت نسبة إنباتها ٣٥٪ بعد انتهاء فترة التخزين .. فإنها تنبت بصورة طبيعية فى الحقل .

طرق اختبار حيوية حبوب اللقاح

تتبع الطرق التالية فى اختبار حيوية حبوب اللقاح .

١- استخدام اللقاح فى التلقيحات ، ثم حساب نسبة العقد .

٢- حساب نسبة الإنبات فى البيئات الصناعية .

٣- اتباع طرق الصبغ السريعة التى تعتمد -أساساً- على وجود السيتوبلازم من عدمه ؛ مثل اختبارات الصبغ بالأسيتوكارمن acetocarmine ، وأزرق القطن cotton blue ، وطرق أخرى نذكر منها ما يلى :

أ- اختبار أملاح التترازوليم Tetrazolium Salts :

فعلى سبيل المثال .. استخدم Norton (١٩٦٦) عدداً من أملاح التترازوليم ؛ لاختبار حيوية حبوب لقاح البرقوق ، ووجد أن أكثرها فاعلية هو :

3 (4,5-dimethyl thiazolyl 1-2) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide ، الذى يعرف بالرمز MTT . وكان الارتباط عاليًا ، وموجباً (r = ٠,٩٩) بين نسبة الإنبات فى البيئة الصناعية ، ونسبة حبوب اللقاح الملونة فى الاختبار .

ب - اختبار الصبغ بالـ malachite green :

توصل Alexander (١٩٦٩) إلى طريقة للتمييز بين حبوب اللقاح الحية والميتة بوضعها فى محلول يتكون من مركبات ، تضاف إلى بعضها بالترتيب والكميات التالية :

الكمية	المركب
١٠ مل	كحول إيثيلى
١ مل	صبغة malachite green ١٪ فى ٩٥٪ إيثانول .
٥٠ مل	ماء مقطر
٢٥ مل	جلسرين
٥ جم	فينول
٥ جم	كلورال هيدريت chloral hydrate
٥ مل	مركب acid fuchsin ١ ٪ فى الماء .
٠,٥ مل	صبغة orange G ١ ٪ فى الماء .
١-٤ مل	حامض خليك ثلجى

يُرجّ المخلوط جيداً بعد كل إضافة ، ويخزن فى زجاجة ملونة . ويفيد وجود حامض الخليك الثلجى فى عمل حد فاصل واضح بين الجدر الخلوية التى تصبغ باللون الأخضر ، والبروتوبلازم الذى يصبغ باللون الأحمر . وتتوقف كمية الحامض التى يجب إضافتها على سمك جدر حبوب اللقاح التى يراد اختبار حيويتها ؛ فتكون ١ ، و ٢ ، و ٣ مل فى حالة حبوب اللقاح الرقيقة ، والمتوسطة ، والسميكة الجدر ، على التوالى ، وتكون ٤ مل عند اختبار حبوب اللقاح ، وهى مازالت داخل المتوك . ويمكن إسراع عملية الصبغ بتدفئة الشريحة على اللهب بالنسبة لحبوب اللقاح ذات الجدر الرقيقة . أما حبوب اللقاح ذات الجدر السميكة .. فإنها تترك فى المحلول لمدة ٢٤-٤٨ ساعة على درجة حرارة ٥٠°م . تصبغ حبوب اللقاح الحية باللون الأحمر ، بينما تأخذ حبوب اللقاح الميتة لوناً أخضر ... ويمكن اتباع هذه الطريقة فى صبغ حبوب اللقاح ، وهى داخل المتوك إن كانت المتوك صغيرة الحجم .

جـ - اختبار الصبغ بالـ Fluoroscein Diacetate :

تتميز هذه الطريقة عن الطرق السابقة بأنها لاتعتمد على وجود أو غياب السيتوبلازم ؛ لأن وجوده لايعنى بالضرورة أن حبة اللقاح كاملة الخصوبة ، كما يتضح من اختبارات الإنبات فى البيئات الصناعية . وتعتمد هذه الطريقة على مدى سلامة الغشاء البلازمى الخارجى Plasmalemma ؛ حيث تسمح الأغشية غير السليمة بدخول صبغة الـ Fluoroscein Diacetate ؛ لتتحلل إلى Fluoroscein فى السيتوبلازم ، وتتراكم -داخليًا - مما يسمح برؤيتها لقدرتها على الاستشعاع . وقد استخدمت هذه الطريقة بنجاح فى اختبار حيوية أكثر من ٣٠ نوعاً نباتيًا ؛ منها البصل ، والطماطم .

تتميز الطريقة ببساطتها ؛ ففى الطماطم .. أذيب ٢ مجم من الصبغة فى ١٠٠ مل أسيتون ، ثم خلطت نقطة من محلول الصبغة مع نقطة من محلول ٠,٥ مولار سكروز على شريحة مجهرية ، ثم أضيفت إليها حبوب اللقاح . ويفضل ترك نقطة محلول الصبغة لمدة دقيقة واحدة ؛ لكى يتبخر الأسيتون قبل إضافة محلول السكروز ، أو معلق حبوب اللقاح فى محلول السكروز (Peterson & Taber ١٩٨٧) .

اختبارات استنبات حبوب اللقاح

تجرى اختبارات استنبات حبوب اللقاح إما فى البيئات الصناعية *in vitro* لتقدير حيويتها ، وإما على مياسم الأزهار *in vivo* لتقدير حيويتها ، وإما لدراسة حالات عدم التوافق .

١- اختبارات الاستنبات فى البيئات الصناعية :

يتأثر إنبات حبوب اللقاح فى البيئات الصناعية بعوامل كثيرة ، نذكر منها ما يلى :

أ- السكريات :

تعد السكريات مواد غذائية ضرورية لإنبات حبوب اللقاح ، ونمو الأنابيب اللقاحية . ويجب أن يكون تركيز السكريات فى البيئة الصناعية مقارباً لتركيزها فى حبة اللقاح ؛ لكى يكون الإنبات جيداً . ويتناسب الضغط الآسموزى للبيئة طردياً مع نسبة إنبات حبوب اللقاح وطول الأنابيب اللقاحية .

ب- البـــورون :

يؤثر البورون فى إنبات حبوب اللقاح ونموها أكثر من أى هرمون معروف ، أو فيتامين، أو مركب كيميائى . يشجع البورون امتصاص السكريات ، وتمثيلها ، ويتحد معها ليكوّن sugar-borate complexes ، كما يزيد البورون استهلاك الأكسجين ، ويدخل فى تمثيل المواد البكتينية اللازمة لجدر الأنابيب اللقاحية النامية . يفضل أن يكون تركيز البورون فى البيئات الصناعية ١٥٠ جزءاً فى المليون ، ويستخدم حامض البوريك -غالبا- كمصدر للبورون . ويبدو أن حبوب لقاح معظم الأنواع النباتية تفتقر -طبيعيًا- إلى البورون (Vasil ١٩٦٤) .

جـ - المركبات الكيميائية الأخرى :

تساعد بعض الهرمونات ، والفيتامينات ، والكاروتينات ، ومضادات الحيوية ، والأملاح العضوية -فى كثير من الأحيان- على زيادة نسبة إنبات حبوب اللقاح فى البيئات الصناعية . ولحامض الجبريلليك تأثير كبير فى زيادة طول الأنبوبة اللقاحية . ومن المحتمل

أن حبوب اللقاح تحتوى بطبيعتها على كميات كافية من بعض الهرمونات ومنظمات النمو ؛ مما يجعل إضافتها إلى البيئات الصناعية غير مجدٍ .

د- التأثير الحيوى لحبوب اللقاح وأعضاء الزهرة الجنسية :

تؤدى المعاملة بمستخلصات حبوب اللقاح ، أو البويضات ، أو أقلام الأزهار ومياسمها إلى تشجيع إنبات حبوب اللقاح فى البيئات الصناعية . كما يؤدى تجمع حبوب اللقاح مع بعضها إلى زيادة طول الأنابيب اللقاحية . ويبدو أن ذلك مرده إلى إفراز بعض المواد المنشطة للنمو من حبوب اللقاح ذاتها .

هـ- درجة الحرارة :

تنمو حبوب لقاح معظم الأنواع النباتية فى درجة حرارة من ٢٠-٣٠ °م ، ويبلغ الـ Q_{10} حوالى ٢,٠ . تتسبب درجات الحرارة الأعلى من ٣٠ °م فى انفجار الأنابيب اللقاحية واتخاذها أشكالاً غير طبيعية .

و- الـ pH :

تنمو حبوب اللقاح فى مدى واسع من الـ pH ، ويتراوح المجال المناسب من ٥,٥-٦,٥ . ولا يتغير pH البيئات كثيراً بعد نمو الأنابيب اللقاحية فيها لمدة ساعتين .

هذا ويكون منحنى نمو الأنابيب اللقاحية sigmoid (الشكل المعروف باسم حرف S) تماماً ولايتغير بتغير درجة الحرارة ، أو المواد الغذائية . وتظهر بالأنابيب اللقاحية لمغطاة البنور حركة دورانية للسيتوبلازم cytoplasmic streaming تتناسب سرعتها وسرعة نمو الأنابيب اللقاحية . ولمزيد من التفاصيل عن فسيولوجيا حبوب اللقاح بوجه عام .. يراجع Johri & Vasil (١٩٦١) ، و Linskens (١٩٦٤) .

٢- اختبارات الاستنبات فى مياسم الأزهار :

يستفاد من اختبارات استنبات حبوب اللقاح فى مياسم وأقلام الأزهار فى دراسات نسبة الإنبات ، وعدم التوافق . وقد توصل Martin (١٩٥٩) إلى طريقة سهلة وسريعة لفحص الأزهار الملقحة لمعرفة درجة نمو الأنابيب اللقاحية فى أقلام الأزهار بعد ١-٢ يوم

من التلقيح ، وهى كما يلى . تثبت أقلام ومياسم الأزهار فى مخلوط يتكون من الفورماليـن ، وحامض الخليك ، والكحول الإيثيلى ٨٠٪ بنسبة ١: ١: ٨ ، على التوالى . ثم تُلَيّن فى محلول صودا كاوية قوى (٨ عيارى) ، ثم تصبغ فى محلول ١,٠٪ من صبغة أزرق الأنيلين aniline blue المذابة فى محلول ١,٠ عيارى من بو٣ فو أ (K_3PO_4) . تهرس الأقلام والمياسم - بعد ذلك - بواسطة أغطية الشرائح المجهرية ، وتفحص باستعمال مجهر تعتمد إضاءته على الأشعة فوق البنفسجية بطول موجه ٣٥٠ ملليميكروناً ، ويجرى الفحص فى حجرة مظلمة . يظهر الكالوز calluse الذى يوجد بجدر حبوب اللقاح والأنابيب اللقاحية بلون أخضر زاهٍ مصفر ، بينما تظهر أنسجة القلم بلون أزرق رمادى ، وبذا .. يمكن دراسة نسبة الإنبات ، ومدى نمو الأنابيب اللقاحية فى أنسجة القلم .