

## ارزیابی اثرات زنیایی و تغییر ژنتیکی (DNA) دانه گرده پسته (*Pistacia vera* L.) با استفاده از پرتوتابی لیزر اشعه ماوراء بنفش

### Evaluation of Xenia Effects and Genetical Modification (DNA) of Pistachio (*Pistacia vera* L.) Pollen Grain Using UV- Laser Radiation

مهرداد دلفارادی<sup>۱</sup>، حسین دشتی<sup>۲\*</sup>، علی اکبر محمدی میریک<sup>۳</sup>، محمد خانزاده<sup>۴</sup> و الهام دهقان<sup>۵</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۷/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۸/۰۲

#### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثرات زنیایی و تغییرات ژنتیکی حاصل از پرتوتابی لیزر UV بر روی دانه گرده پسته انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل که در آن والد نر در سه سطح ( $m_1$ ،  $m_2$  و  $m_3$ ) و پایه‌های ماده در سه سطح (ارقام اکبری، کله قوچی و اوحدی) و عامل پرتوتابی دانه گرده در دو سطح (پرتودیده و پرتوندید) در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار اجرا شد. صفات وزن میوه (متوسط وزن دانه در خوشه)، متوسط طول و عرض میوه در خوشه، درصد پوکی و خندانی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد پرتوتابی باعث افزایش وزن دانه در ارقام کله قوچی و اوحدی در تلاقی با نر  $m_1$ ، و در ارقام کله قوچی و اکبری در تلاقی با نر  $m_3$  و کاهش وزن دانه در ارقام کله قوچی، اوحدی و اکبری در تلاقی با نر  $m_2$  گردید. پرتوتابی درصد پوکی را افزایش و درصد خندانی را کاهش داد. به منظور بررسی اثر لیزر در ایجاد جهش بر ماده ژنتیکی دانه گرده، DNA استخراج شده از دانه‌های گرده پرتو دیده، پرتو ندیده و تلاقی‌ها مورد تجزیه RAPD قرار گرفت. آغازگرهای مورد استفاده ۸۶ مکان را تکثیر کردند که ۷۶٪ مکان‌ها چند شکل بودند. تجزیه خوشه‌ای دامنه تشابه ژنتیکی از ۰/۷۸ تا ۰/۴۳ را نشان داد که حاصل تغییرات ژنتیکی بر اثر پرتوتابی و تنوع بین پایه‌های مادری است. گروه‌بندی جداگانه گرده پرتو دیده و پرتو ندیده در دو گروه مجزا نشان داد که لیزر موجب تغییرات ژنتیکی در DNA دانه گرده شده است.

واژه‌های کلیدی: تغییرات ژنتیکی، پرتوتابی، پایه‌های ماده، RAPD

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان  
۴. استادیار گروه فیزیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان  
۵. مربی پژوهشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان  
\* نویسنده مسوول  
Email: dashti@vru.ac.ir

## مقدمه

کفکاس و همکاران (Kafkas *et al.*, 2006) بیان کردند که جنس پسته *Pistacia* از خانواده Anacardiaceae و شامل ۱۱ گونه است که فقط *P. vera* L. دارای میوه‌های خندان و از لحاظ تجاری دارای اهمیت می‌باشند. زهری (Zohary, 1952) معتقد است که قدیمی‌ترین گونه موجود در این جنس، گونه *vera* می‌باشد و گونه‌های دیگر احتمالاً از آن مشتق شده‌اند. گرده‌افشانی اهمیت زیادی در تولید اقتصادی پسته دارد وودروف (Woodroof, 1982). در بسیاری از تحقیقات اثر کمیت و نوع دانه گرده بر روی کیفیت میوه مانند: درصد خندانی، پر شدن مغز، وزن میوه و غیره ثابت شده است. افشاری؛ گوپتا و همکاران؛ ریاضی و همکاران (Afshari *et al.*, 2002; Gouta *et al.*, 2002; Riazi *et al.*, 1996) بیش‌ترین میزان محصول با کاربرد نیم گرم گرده برای درخت با افزایش معنی‌داری ۱۷٪ نسبت به شاهد به‌دست آمد، جوانه‌زنی گرده روی کلالة در تیمار نیم گرم گرده برای هر درخت کم‌ترین مقدار نسبت به تمامی تیمارهای بدون پوشاندن گل‌ها بود، جوانه‌زنی گرده روی کلالة در یک گرم گرده برای هر درخت نر از خوشه‌های پوشانده شده ۳/۵ برابر بیشتر از جوانه‌زنی در تیمار نیم گرم گرده برای هر درخت بود.

مهم‌ترین عامل رسیدن به افزایش عملکرد در واحد سطح ایجاد ارقام مقاوم به بیماری‌ها، آفات، سرما، خشکی و شوری، تغییر کیفیت محصول، شناسایی ارقام و پایه‌های پسته و حفظ ذخایر ژنتیکی این گیاه می‌باشد. بنابراین انجام تحقیقات در زمینه جمع‌آوری ذخایر توارثی پسته و شناسایی آن‌ها از نظر مورفولوژیکی و ژنتیکی ضروری است. تاج‌آبادی پور (Tajabadipur *et al.*, 2011). تنوعی که در گیاهان و جانوران وجود دارد حاصل موتاسیون‌های طبیعی در سطح DNA است که در طی میلیون‌ها سال واقع شده است. هدف از موتاسیون در اصلاح نباتات ایجاد تنوع ژنتیکی از طریق افزایش فراوانی موتاسیون در داخل گونه و انتخاب آللهای جدید است. به‌طور کلی دو روش فیزیکی و شیمیایی در ایجاد موتاسیون‌های القایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. براون و کولیگاری (Brown and Coligari, 2008) اظهار داشته‌اند که انواع مختلف پرتوها مثل اشعه ماوراءبنفش یا Ultra Violet اشعه ایکس، ذرات آلفا و غیره همیشه مورد استفاده به‌نژادگران بوده است. در سال‌های اخیر محققان استفاده از انرژی هسته‌ای (پرتوها و مواد رادیواکتیو) را ابزاری مهم و قدرتمند برای ایجاد تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی می‌دانند که در همین راستا برخی از جهش‌های رخ داده در DNA ژنوم گیاهی شناسایی شده است که صفاتی را تحت تأثیر خود قرار می‌دهند، در برخی موارد با

استفاده از جهش، صفاتی به‌ویژه در مقاومت به بیماری‌ها ایجاد شده است که قبلاً در طبیعت وجود نداشته است. موتاژن‌های فیزیکی که اغلب شامل پرتوها و تشعشعات می‌شوند، به‌عنوان ابزاری مناسب در اصلاح‌نباتات برای غنی‌کردن ژرم‌پلاسم و بهبود ارقام شناخته شده‌اند. القاء جهش به‌وسیله اشعه‌ها یا مواد شیمیایی جهش‌زا سرعت جهش‌های خودبه‌خودی و شانس تولید صفات جدید را افزایش می‌دهد. خاراکوال (Kharakwal, 1996) بیان کرد صفات پلی‌ژنیک مانند: عملکرد دانه، زمان رسیدن، کیفیت دانه، تحمل به تنش و مقاومت به بیماری در محصولات مختلف توسط جهش‌زایی بهبود یافته است. به‌نظر می‌رسد بشر برای استفاده بهتر از گیاهان به فکر استفاده از روش‌های نوین مثل تکنیک‌های هسته‌ای افتاده است. امروزه یکی از روش‌های فیزیکی ایجاد تغییر در گیاهان پرتوتابی توسط لیزر است. به گفته موزینسکی و همکاران (Muszynski *et al.*, 2005) لیزر در زمینه‌های متعدد کشاورزی کاربرد دارد. نور لیزر با شدت کم وقتی بر روی بذر، نهال و گیاهان استفاده می‌شود به‌عنوان یک محرک زیستی عمل می‌کند. بیش‌ترین کاربرد آن در کشاورزی به‌صورت تیمار بذر قبل از کاشت است. بذر و دانه گرده قسمت‌هایی از گیاه هستند که بیشتر توسط متخصصین اصلاح نباتات در معرض موتاسیون القایی قرار می‌گیرند. نتایج به‌دست آمده از پرتوتابی لیزر هلیم نئون بر روی بذر خلر (*Lathyrus sativus* L.) نشان داد که طول موج ۶۳۲ موجب تغییرات سیتومورفولوژیکی قابل توجه در گیاه خلر گردیده شولکا و کومار (Shukla and kumar, 2013).

یکی از جاذبه‌های ممکن در استفاده از گرده در اصلاح موتاسیونی از طریق پرتوتابی و مواد شیمیایی این است که ۱. به مقدار زیاد قابل جمع‌آوری است. ۲. به سادگی می‌توان آن را در معرض موتاژن قرار داد. ۳. تک سلولی است و شیمیر ایجاد نمی‌کند. ۴. هاپلوئیدی است و این امکان را برای تولید لاین‌های حقیقی (خالص) از طریق دو برابر کردن تعداد کروموزوم‌ها در کشت بافت فراهم می‌کند و آللهای مغلوب نیز در فنوتیپ تظاهر می‌یابند (براون و کولیگاری، 2008). نور لیزر دارای ویژگی‌هایی چون درخشندگی بالا، تک خطی و جهت‌دار بودن، پهنای باند باریک و هم‌دوست است. لذا به نظر می‌رسد چنان‌چه تغییر ژنتیکی مفیدی توسط لیزر ایجاد شود، این تغییر را می‌توان به‌صورت کنترل شده و اختصاصی برای تغییر مناطق خاصی از DNA به‌کار برد. از پرتوتابی توسط لیزر جهت تحریک بذور و ایجاد تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی در بسیاری از نهادانگان استفاده زیادی شده است؛ اما از اثر پرتوتابی بر روی بذور و یا دانه گرده گونه‌های چوبی به‌ویژه پسته گزارشی در دست نیست. مارکرهای مولکولی حاصل از DNA ابزارهایی با

عرض میوه بر خوشه، درصد پوکی و خندانی در پنج خوشه از هر تلاقی اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار آنالیز گردید. نرمال بودن توزیع خطاهای آزمایش بررسی و در صورت لزوم تبدیل مناسب انجام شد.

لیزر UV که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت توان متوسط آن یک ژول در هر پالس است. اندازه سطح مقطع آن  $1 \times 2$  سانتی‌متر است که می‌توان آن را با استفاده از لنز بزرگتر کرد. فرکانس برخورد آن به نمونه آزمایش ۱۰۰ هرتز (در هر ثانیه حداکثر ۱۰۰ بار نمونه تحت تابش لیزر قرار می‌گیرد) است. این لیزر اشعه ماوراء بنفش مونوکروماتیک را با طول موج  $308$  نانومتر به نمونه می‌تاباند که نسبت به منابع معمولی UV متفاوت است. انرژی فوتونی آن طبق رابطه زیر چهار الکترون ولت است که این توان برای تحریک اتم‌ها و مولکول‌هایی که انرژی پیوندی آن‌ها در ناحیه مرئی قرار دارد، کافی می‌باشد.

$$E = hc/\lambda = 1240\text{eV}\cdot\text{nm} / 308 \text{ (nm)} = 4.02\text{eV}$$

(فرمول ۱: Basting and Marosky, 2005)

c: سرعت نور،  $\lambda$ : طول موج و h: ثابت پلانک

جهت مطالعه تغییرات حاصل از پرتوتابی لیزر بر روی DNA، استخراج DNA از گرده‌های پرتوتابی شده، پرتوتابی نشده و گیاهان کشت شده حاصل از بذور به‌دست آمده از تلاقی‌ها انجام شد (شکل ۱).

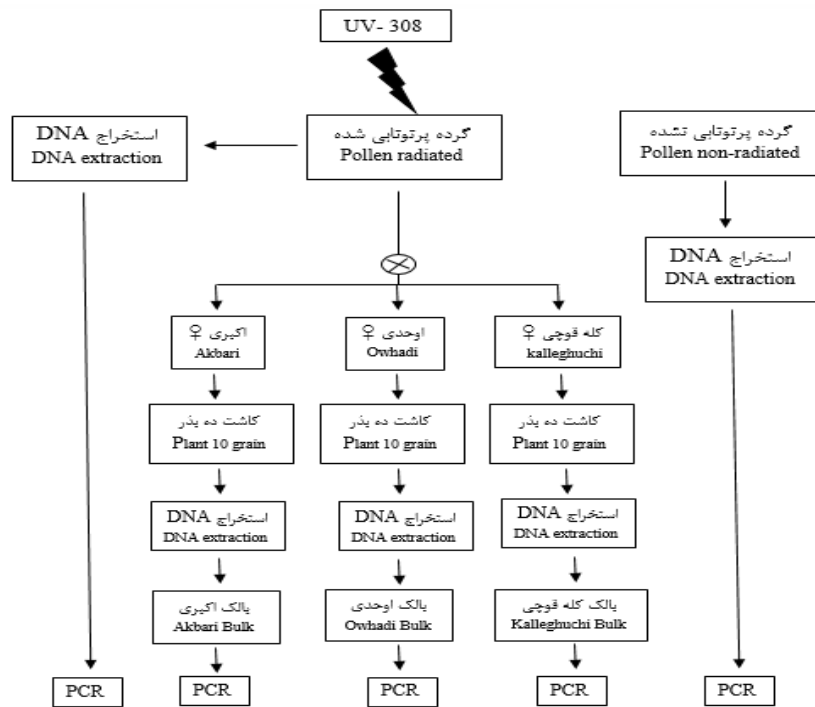
استخراج DNA از نمونه‌های برگ‌ی و گرده با استفاده از روش CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) براساس روش موری و تامسون (Murry and Thompson, 1989) صورت گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA به‌دست آمده با استفاده از روش الکتروفورز DNA روی ژل آگارز با غلظت ۱/۵ درصد و نیز روش اسپکتروفتومتری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر با استفاده از دستگاه نانودرآپ صورت گرفت. به‌منظور بررسی تغییرات ژنتیکی به‌وجود آمده از پرایمرهای ده نوکلئوتیدی (RAPD) استفاده شد. واکنش‌های PCR با ده آغازگر در سه تکرار به‌صورت زیر انجام شد.

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱/۵ میکرولیتر  $MgCl_2$  (25mM)، یک میکرولیتر dNTP (10mM)، یک میکرولیتر آغازگر، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X، پنج میکرولیتر DNA الگو (5ng/  $\mu\text{lit}$ )، ۰/۳ میکرولیتر Taq DNA polymerase و ۱۳/۷ میکرولیتر آب دوبار تقطیر در دستگاه ترموسایکلر (Thermal Cycler Bio-Rad, C1000tm) انجام شد.

کارایی بالا جهت تشخیص پلی‌مورفیسم در سطح DNA و اثبات وقوع موتاسیون می‌باشند. در این بین مارکر RAPD از مارکرهایی است که با توجه به مزایایی که در سهولت کاربرد دارد می‌تواند تغییرات DNA حاصل از موتاسیون القایی را که در اثر پرتوتابی و یا موتاسیون‌هایی که در محیط‌کشت بافت (سوماکلونال و گامتوکلونال) در سطح DNA واقع می‌شوند را تشخیص دهد سونیا و همکاران؛ رانی و همکاران (Sonya et al., 2001; Rani et al., 1995). در بررسی تنوع ژنتیکی رایزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) نشانگرهای RAPD، ERIC و ISSR با یکدیگر مقایسه شدند که دو نشانگر RAPD و ISSR نتایج مشابهی را نشان دادند و همبستگی بین ماتریس تشابه و دندروگرام به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای در دو نشانگر به‌ترتیب ۰/۹۱ و ۰/۹۴ بود. خداپوری و همکاران (Khodayari et al., 2007). کاتوپدهیایی و همکاران (Chattopadhyay et al., 2013) تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های ماش را با استفاده از نشانگرهای RAPD و ISSR مطالعه کردند و بیان کردند که این دو نشانگر نتایج یکسانی را داشتند. با توجه به این که اطلاعاتی در مورد اثرات پرتوتابی لیزر بر روی تغییرات ژنتیکی و اثرات زیبایی آن به خصوص بر روی دانه گرده پسته در دست نیست. لذا این پژوهش به‌منظور: ۱. بررسی اثر پرتوتابی لیزر دانه گرده بر روی خصوصیات میوه، ۲. بررسی تغییرات ژنتیکی DNA حاصل از پرتوتابی لیزر بر روی گرده پسته انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در دانشگاه ولی عصر رفسنجان با همکاری آزمایشگاه لیزر گروه فیزیک (جهت پرتوتابی دانه‌های گرده) و مؤسسه تحقیقات پسته رفسنجان در سال ۱۳۹۳ انجام شد. جهت مطالعه اثر پرتوتابی گرده بر روی خصوصیات میوه، سه درخت نر ( $m_1$ ،  $m_2$  و  $m_3$ ) از کلکسیون باغ مؤسسه تحقیقات پسته رفسنجان به‌عنوان منبع دانه گرده انتخاب شد. در زمان تلاقی گرده‌های آن‌ها برداشت و به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت از هر کدام مورد پرتوتابی لیزر UV (لیزر اگزایمر از نوع گازی XeCl) به‌مدت پنج دقیقه قرار گرفت. گرده‌های پرتوتابی نشده ( $P_1$ ) و گرده‌های پرتوتابی شده ( $P_2$ ) حاصل از نرهای  $m_1$ ،  $m_2$  و  $m_3$  با سه رقم پسته اکبری، کله‌قوچی و اوحدی ( $f_1$ ،  $f_2$  و  $f_3$ ) به‌صورت فاکتوریل ( $2 \times 3 \times 3$ ) تلاقی داده شدند. پس از برداشت دانه‌ها، متوسط وزن دانه در خوشه، متوسط طول و



شکل ۱: نقشه استخراج DNA و PCR جهت مطالعه تغییرات DNA در اثر پرتوتابی لیزر UV-308  
 Fig. 1: DNA extracted map and PCR to study DNA variation caused by UV-308-Laser irradiation

فراوانی  $i$  مین آل (باند) می‌باشد و شاخص تنوع برای هر آغازگر عبارتست از جمع  $D_i$ ‌های باندهای آغازگر/اسمیت و همکاران؛ میلیبرن و همکاران (Smith et al., 1997; Milbourne et al., 1997).

$$D_i = 1 - \sum p_i^2 \quad (4) \text{ فرمول ۴}$$

### نتایج و بحث

الف) مطالعه اثر دانه گرده پرتوتابی شده توسط لیزر بر روی خصوصیات میوه (دانه) پسته

#### وزن دانه

تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی والد ماده و اثرات متقابل (والد نر × پرتوتابی)، (والد نر × والد ماده) و اثر متقابل سه جانبه معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه میانگین صفت متوسط وزن دانه در خوشه (جدول ۲) نشان داد که در گرده‌های پرتوندیده (شاهد) و پرتودیده بین ارقام ماده اختلاف معنی‌داری وجود دارد و در گرده‌های پرتوندیده بیش‌ترین وزن در رقم اکبری و در گرده‌های پرتودیده رقم اوحدی در تلاقی با والد  $m_1$  بیش‌ترین وزن دانه را داشت. پرتوتابی باعث افزایش وزن در ارقام کله قوچی و اوحدی و کاهش وزن در رقم اکبری شد. بین اکبری و کله‌قوچی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت درحالی‌که بین کله‌قوچی و اوحدی اختلاف معنی‌داری وجود داشت و بیش‌ترین آن در رقم اوحدی به‌دست آمد که نشان‌دهنده اثرات سیتوپلاسمی بر روی وزن دانه است. متفاوت بودن اثرات زنبایی

### محاسبات آماری

تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار Minitab ۱۴ در قالب آزمایش فاکتوریل  $3 \times 3 \times 2$  با پنج تکرار و مقایسات میانگین با MSTATC انجام شد. برای بررسی چندشکلی و تغییرات ژنتیکی DNA حاصل از پرتوتابی باندهای حاصل از PCR براساس حضور یا عدم حضور، به کد صفر و یک تبدیل شد. ماتریس تشابه با استفاده از ضریب تشابه Simple matching و تجزیه خوشه‌ای به روش Complete انجام شد محمدی و پراسنا (Mohammadi and Prasanna, 2003). رسم دندروگرام با استفاده از نرم‌افزار NTSYS نسخه ۲/۰۲e صورت پذیرفت. برای هر آغازگر در این آزمایش میزان محتوای چند شکلی (PIC یا  $D_i$ )، قدرت تفکیک ( $R_p$ ) محاسبه شد. این ضریب بیان‌گر میزان کارایی هر نشانگر برای جداسازی و تفکیک نمونه‌های مورد مطالعه می‌باشد پریوست و ویلکینسون (Prevost and Wilkinson, 1999). این شاخص براساس فرمول (دو) محاسبه می‌شود.

$$R_p = \sum I_b \quad (2) \text{ فرمول ۲}$$

$$I_b = 1 - (2 \times |0.5 - P|) \quad (3) \text{ فرمول ۳}$$

که در آن  $I_b$  میزان آگاهی‌بخش بودن هر باند یک پرایمر می‌باشد.  $P$ : نسبتی از ژنوتیپ‌ها که دارای باند مورد نظر می‌باشند. این مقدار طبق فرمول (سه) برای هر کدام از باندهای تولید شده می‌تواند بین یک تا صفر متغیر باشد. شاخص تنوع یک باند ( $D_i$ ) براساس فرمول (چهار) محاسبه شد که در آن  $p_i$

پرتوتایی در وزن دانه در ارقام کله‌قوچی و اوحدی مثبت و افزایشی بود ولی در رقم اکبری منفی و کاهشی بود. این نتایج نشان داد که نوع و منبع دانه گرده در وزن دانه مؤثر بوده و با نتایج/فشاری و همکاران (Afshari *et al.*, 2008) مبنی بر وجود اثر زنیایی دانه گرده بر وزن دانه مطابقت دارد.

در نر  $m_2$  میانگین وزن دانه حاصل از گرده پرتودیده کمتر از گرده پرتوندیده بود. در گرده پرتوندیده رقم اکبری با ارقام اوحدی و کله‌قوچی اختلاف معنی‌داری نداشت و بیش‌ترین وزن دانه در ارقام کله‌قوچی و اکبری به‌دست آمد. در گرده پرتودیده بیش‌ترین وزن در ارقام اکبری و اوحدی که اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و کم‌ترین آن در رقم کله‌قوچی ایجاد شد. میانگین‌های سه والد ماده در نر  $m_2$  نشان داد که اوحدی و اکبری بیش‌ترین وزن دانه را نشان دادند ولی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند و کم‌ترین آن در رقم کله‌قوچی است که متفاوت بودن اثرات سیتوپلاسمی بین ماده‌ها در وزن دانه را نشان می‌دهد. اثر زنیایی پرتوتایی در دانه گرده والد نر  $m_2$  بر روی پایه ماده کله‌قوچی منفی و معنی‌دار بوده ولی در ماده‌های اکبری و اوحدی معنی‌دار نیست لذا پرتوتایی در والد نر  $m_2$  اثر زنیایی متفاوتی نسبت به نر  $m_1$  نشان داده است که این همان اثر متقابل بین پرتوتایی و نر (دانه گرده) می‌باشد (جدول ۲). با توجه به میانگین گرده‌های پرتوتایی شده و بدون پرتوتایی در والد نر  $m_3$  تفاوتی بین گرده پرتوتایی شده و پرتوتایی نشده وجود نداشت. میانگین وزن دانه بین پایه‌های مادری متفاوت بود و رقم اکبری کم‌ترین وزن دانه را داشت اما در نرهای  $m_1$  و  $m_2$  کم‌ترین وزن دانه مربوط به رقم کله‌قوچی بود که نشان‌دهنده اثر متقابل بین نر و ماده است. اثر زنیایی پرتوتایی در والد نر  $m_3$  فقط در اوحدی معنی‌دار بود و در ماده‌های کله‌قوچی و اکبری اثر معنی‌داری نداشت. به‌طورکلی اثرات پرتوتایی ( $P_2 - P_1$ ) در والد نر  $m_1$  در هر سه رقم ماده معنی‌دار شد و این معنی‌داری در رقم اکبری به‌صورت کاهشی است، در والد نر  $m_2$  در کله‌قوچی منفی و معنی‌دار است و در والد نر  $m_3$  در اوحدی کاهشی و معنی‌دار بود. پرتوتایی لیزر UV اثرات زنیایی متفاوتی را در نرهای مختلف ایجاد می‌کند، هم‌چنین بیش‌ترین وزن دانه در رقم اوحدی و کم‌ترین وزن دانه در رقم کله‌قوچی به‌وجود آمد (با توجه به میانگین کل ماده‌ها). در مطالعه‌ای که توسط/فشاری و همکاران (2008) انجام شد رقم کله‌قوچی دارای وزن دانه بیشتری در مقایسه با ارقام احمد آقایی و اوحدی بودند. درحالی‌که در این آزمایش بیش‌ترین وزن در رقم اوحدی در تلاقی با نر  $m_1$  و  $m_3$  کم‌ترین وزن دانه مربوط به رقم کله‌قوچی در تلاقی با نر  $m_2$  و رقم اکبری در تلاقی با نر  $m_3$  بود. به گزارش/بوزهر/ و/العبادی (Abu-Zahra

and Al-Abbadi, 2007) اثرات مختلف درختان نر در ارقام مختلف پسته مربوط به تفاوت در ویژگی‌های ژنتیکی پایه‌ها و گرده‌افشانی است. دژم‌پور و گریگوریان (Dejampour and Grigourian, 2004) گزارش کردند که تغییر در میزان وزن میوه زردآلو توسط دانه گرده علاوه بر آنکه بر رشد و اندازه میوه مربوط می‌شود در میزان مواد جامد محلول و مقدار قند ماده خشک میوه نیز مؤثر است. /فشاری و همکاران (2008) بیان کردند که تأثیر نوع دانه گرده بر افزایش یا کاهش وزن میوه حاصله در مقایسه با تیمار شاهد بیانگر وجود اثر زنیایی در پسته می‌باشد، آن‌ها طی دو سال آزمایش بیان کردند که علت افزایش وزن کل میوه در سال دوم ممکن است عوامل تغذیه‌ای و یا محیطی در مقایسه با سال اول تحقیق باشد که درصد پوکی کمی را هم موجب شده است. براساس نتایج رضا و همکاران (Raza *et al.*, 2014) وزن دانه توسط منبع دانه گرده تحت تأثیر قرار می‌گیرد. اما جواد و قسلاقی (Javadi and Mehlenbacher, 2006) و ملن باچر و همکاران (et al., 1993) گزارش کردند که منبع دانه گرده هیچ تأثیری بر اندازه هسته فندق به‌دلیل استفاده از گرده نامناسب نداشت.

### طول و عرض دانه

تجزیه واریانس برای صفت عرض دانه نشان داد که اثر پرتوتایی معنی‌دار نبود. والد ماده و اثر متقابل بین والد نر و ماده در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار است (جدول ۱). جدول مقایسه میانگین نشان داد که بین رقم اکبری با ارقام کله‌قوچی و اوحدی در تلاقی با والد نر  $m_1$  اختلاف معنی‌داری وجود دارد و رقم اکبری کم‌ترین عرض دانه را نشان داد (جدول ۳). در بین ارقام ماده گرده‌افشانی شده با پایه نر  $m_2$  اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بین ارقام کله‌قوچی و اوحدی گرده‌افشانی شده با والد نر  $m_3$  اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما بین ارقام اوحدی و اکبری اختلافی مشاهده نشد و بیش‌ترین عرض در ارقام اوحدی و اکبری به‌دست آمد. به‌طورکلی منبع دانه گرده اثرات متفاوت و معنی‌داری در عرض دانه ایجاد کرد و بیش‌ترین عرض دانه از گرده‌افشانی گرده‌های والد نر  $m_1$  به‌دست آمد. تجزیه واریانس برای صفت طول دانه نشان داد که اثرات متقابل بین نر و ماده در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه میانگین نشان داد که بین ارقام کله‌قوچی و اوحدی با رقم اکبری گرده‌افشانی شده با والد نر  $m_1$  اختلاف معنی‌داری وجود دارد و رقم کله‌قوچی و اوحدی بیش‌ترین طول دانه را نشان داد (جدول ۳). در بین ارقام ماده گرده‌افشانی شده با پایه‌های نر  $m_2$  و  $m_3$  اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هم‌چنین گرده‌افشانی با گرده‌های والد نر  $m_2$  بیش‌ترین طول دانه را

گرده‌افشانی طبیعی با گونه ورا بیش‌ترین طول دانه را تولید کرده و عرض دانه بین ۹/۵۷ میلی‌متر و ۱۰/۴۷ میلی‌متر متغیر بود.

به‌وجود آورد. این نتایج با نتایج آک و کاسکا (Ak and Kaska, 1998)، ادلوند و همکاران (Edlund *et al.*, 2004) مبتنی بر عدم تأثیر دانه‌های مختلف گرده بر صفات طول، قطر و عرض میوه مطابقت ندارد. اما طبق مطالعه بسکاک (Bescak, 2001)

جدول ۱: تجزیه واریانس برای صفات تحت مطالعه

Table 1: Analysis of variance for the traits under study

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares				
		خندانی Dehiscence	پوکی Blank	عرض میوه Width	طول میوه Length	متوسط وزن میوه درخوشه Average of fruit weight
پرتوتابی P	1	0.14**	0.10**	0.04 <sup>ns</sup>	2 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>
والد نر Male	2	0.01 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.73 <sup>ns</sup>	17.7**	0.02 <sup>ns</sup>
والد ماده Female	2	0.42**	0.56**	27.61**	119.6**	0.73**
پرتوتابی × والد نر M × P	2	0.02 <sup>ns</sup>	0.05*	0.89 <sup>ns</sup>	4.14 <sup>ns</sup>	0.12*
پرتوتابی × ماده F × P	2	0.01 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.26 <sup>ns</sup>	0.66 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>
نر × ماده M × F	4	0.03 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	2.95**	12.42**	0.13**
پرتوتابی × نر × ماده P × M × F	4	0.01 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>	2.37 <sup>ns</sup>	0.16**
خطای آزمایش Experimental error	68	0.01	0.01	0.64	1.54	0.03
درصد ضریب تغییرات Coefficient of variation		12.5	14.3	7	6.9	17.9

ns, \* و \*\*: به ترتیب نشان‌دهنده غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشند. روی صفات پوکی و خندانی تبدیل جذری  $(\sqrt{x+0.5})$  انجام شده است

ns, \* and \*\*: Not significant, significant at 5 % and 1 %, respectively. Square root transformation  $(\sqrt{x+0.5})$  is done on characteristics blank and dehiscence

### درصد پوکی

میوه، در این زمان لوله گرده خوب رشد نکرده، جنین تشکیل نشده و در نتیجه میوه پوک می‌شود و دیگری در حین پر شدن میوه. ظرفیت ذخیره کربوهیدرات درخت‌ها، درصد پر شدن میوه‌ها را تعیین می‌کند، این تئوری با تنک کردن خوشه قبل از رشد میوه به اثبات رسیده است. به گزارش آکار و همکاران (Acar *et al.*, 2010) بور توسط کلالة و خامه تأمین می‌شود و جذب قند از کلالة و خامه را تسهیل می‌کند و در تولید پکتین در لوله گرده، جوانه‌زنی دانه‌گرده و تشکیل لوله گرده نقش دارد، بنابراین نقش حیاتی در لقاح و گل‌دهی دارد و در نتیجه باعث کاهش میوه‌های پوک می‌شود. براساس نتایج اسماعیل‌پور (Esmailpour, 2005) در بین ارقام تجاری کشور، تاکنون بیش‌ترین درصد پوکی در ارقام کله‌قوچی با ۳۵ درصد و بادامی زرد با ۳۲ درصد و کم‌ترین با حدود هفت درصد در دو رقم احمد آقایی و خنجری گزارش شده است. بالا بودن درصد پوکی در تلاقی بین رقم عاشوری و درخت نر ۳۶ به‌دلیل ناسازگاری گرده‌افشانی بین این دو گونه است. لاگرسند

نتایج تجزیه واریانس برای صفت پوکی نشان داد که اثر پرتوتابی، والد ماده و اثرات متقابل (پرتوتابی × نر) در سطح ۱٪ معنی‌دار شدند (جدول ۱). مقایسه میانگین ارقام ماده نشان داد که بین رقم کله‌قوچی با ارقام اکبری و اوحدی اختلاف معنی‌داری وجود دارد و بیش‌ترین درصد پوکی در رقم کله‌قوچی مشاهده شد (جدول ۴). مقایسه میانگین مربوط به اثر متقابل پرتوتابی و والد نر نشان داد که تنها در والد نر m<sub>2</sub> اثر پرتوتابی منفی و معنی‌دار بوده است (جدول ۵).

دهدار/مسجدلو (Dehdare-Masjedlo, 1994) بیان کرد پرتوتابی احتمالاً باعث از بین رفتن دانه‌های گرده، عدم لقاح و منجر به افزایش پوکی میوه‌ها شده است از سوی دیگر عمر دانه گرده بسیار کوتاه بوده و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و در مدت هشت ساعت، دانه گرده پسته قدرت باروری خود را از دست می‌دهد. درویشیان (Darvishian, 2002) گزارش کرد پوکی پسته در طی دو مرحله رخ می‌دهد: یکی در طی تشکیل

(Lagerstedt, 1977) چندین عامل را که ممکن است باعث پوکی شوند مانند: سیتومیکس، ژنتیکی، خودناسازگاری، خودگرده‌افشانی، آنیوپلوئیدی، عدم لقاح، سقط جنین و تغییرات فصلی ذکر کرد. ملن باچر و همکاران (1993) گزارش کردند دگر گرده‌افشانی در فندق پوکی را کاهش داد. در این آزمایش پرتوتابی پوکی را افزایش داد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل والد ماده در پرتوتابی (با حروف کوچک) و اثرات اصلی (با حروف بزرگ) پرتوتابی لیزر و والد ماده در صفت متوسط وزن دانه در خوشه در سطح ۵ درصد

Table 2: Comparison of interaction between female parent and radiation (with lowercase letter) and main effect of radiation within males parents (with capital letter) for average fruit weight per spike at 5% level of probability

والد نر Male parent	پرتوتابی Radiation	والد ماده Female parent			میانگین <sup>۱</sup> Mean <sup>1</sup>	LSD 5%
		کله قوچی Kaleh-ghouchi	اکبری Akbari	اوحدی Owhadi		
m1	پرتو ندیده p <sub>1</sub> (Non-irradiation)	0.71c	1.18a	0.9b	0.93A	0.13
	پرتو دیده p <sub>2</sub> (Irradiation)	0.83b	0.59c	1.04a	0.82B	
	میانگین <sup>۱</sup> Mean <sup>1</sup>	0.77B	0.89A	0.97A	0.16	
اثر پرتوتابی Radiation effect	p <sub>2</sub> -p <sub>1</sub>	0.12*	-0.58*	0.14*		0.11
m2	پرتو ندیده p <sub>1</sub> (Non-irradiation)	1.31a	1.21ab	1.14b	1.22A	0.13
	پرتو دیده p <sub>2</sub> (Irradiation)	0.31b	1.11a	1.06a	0.82B	
	میانگین <sup>۱</sup> Mean <sup>1</sup>	0.81B	1.16A	1.10A	0.16	
اثر پرتوتابی Radiation effect	p <sub>2</sub> -p <sub>1</sub>	-0.99*	-0.09	-0.08		0.11
m3	پرتو ندیده p <sub>1</sub> (Non-irradiation)	0.82b	1a	1.09a	0.97A	0.13
	پرتو دیده p <sub>2</sub> (Irradiation)	0.86b	1.04a	0.91b	0.94A	
	میانگین <sup>۱</sup> Mean <sup>1</sup>	0.84B	0.52C	1.05A	0.16	
اثر پرتوتابی Radiation effect	p <sub>2</sub> -p <sub>1</sub>	0.03	0.04	-0.18*		0.11
میانگین کل ماده‌ها Means of female		0.81C	0.85B	1.04A		0.09

۱: میانگین‌های اثرات اصلی که حداقل دارای یک حرف مشترک‌اند تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند، \*: معنی‌دار در سطح ۵ درصد

1: Main effect means with the same letters have not significant difference at 5% level, \*: Significant at 5% level

### درصد خندانی

شده اما مکانیسم خندان شدن پسته هنوز نامشخص است. ریاضی و همکاران (1996) گزارش کردند گرده‌های گونه بنه و آتلانتیکا رشد مغز میوه و درصد میوه‌های خندان را کاهش داد در حالی که گرده ارقام ممتاز و سلطانی از گونه اهلی پسته، اندازه و تعداد میوه‌های خندان را افزایش داد. نتایج بسکاک (2001) نشان داد درصد خندانی بین ۴۱/۰۹ درصد و ۴۲/۵۳ درصد متغیر بود و بهترین نتیجه ۴۲/۵۳ درصد با استفاده از گرده آتلانتیکا به‌دست آمد. /بوسعیدی و همکاران (2001) بیان کردند در بین ارقام تجاری کشور، در دو رقم اوحدی و شاه‌پسند، عارضه زود خندانی گزارش نشده است و در سه رقم اکبری، احمدآقایی و کله‌قوچی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که تنها اثرات پرتوتابی و والد ماده در سطح ۱ معنی‌دار است. مقایسه میانگین ارقام ماده (جدول ۴) نشان داد که بین ارقام کله‌قوچی، اکبری و اوحدی اختلاف معنی‌داری وجود دارد و بیش‌ترین درصد خندانی در رقم اوحدی مشاهده شد و بین گرده‌های پرتو دیده و پرتو ندیده اختلاف معنی‌داری وجود داشت و بیش‌ترین درصد خندانی در گرده‌های پرتو ندیده مشاهده شد (جدول ۶). درویشیان (2002) معتقد است که خندانی در پسته به‌عنوان یک عامل مهم برای انتخاب رقم مناسب جهت تولید تجاری می‌باشد. فرضیه‌های متفاوتی برای علت خندان شدن پسته ارائه

جذب عناصر تغذیه‌ای و در نهایت کیفیت پسته تأثیر منفی می‌گذارد. در این آزمایش اثر زنبایی پرتوتابی بر دانه گرده بر روی خندانی منفی و معنی‌دار بود.

حدود نیم درصد از میوه‌ها دچار این عارضه می‌شوند. به گزارش صالحی و همکاران (Salehi *et al.*, 2009) احتمالاً کاهش درصد خندانی ناشی از افزایش پتاسیم نیز می‌تواند به دلیل اثرات منفی زیادی رس باشد که بر روی رشد و نفوذ ریشه در خاک و

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل نرها در ماده‌های مختلف در صفات طول و عرض دانه (با حروف کوچک)

Table 3: Mean comparison of interaction between males and females on length and width of fruit (with lowercase letter)

		کله قوچی Kaleh-ghouchi	اکبری Akbari	اوحدی Owhadi	میانگین* Mean*	LSD 5%
طول دانه Nut length	m <sub>1</sub>	19.34a	16.22b	20.03a	18.53B	0.63
	m <sub>2</sub>	19.49a	19.46a	20.14a	19.69A	
	m <sub>3</sub>	15.46b	15.91b	16.01b	15.8C	
میانگین* Mean*		18.1AB	17.2B	18.72A		1.16
عرض دانه Nut width	m <sub>1</sub>	12.93a	11.61b	12.64a	12.39A	0.63
	m <sub>2</sub>	11.86b	11.92b	11.43bc	11.73B	
	m <sub>3</sub>	9.94e	10.47de	10.82cd	10.41C	
میانگین* Mean*		11.58A	11.33A	11.63A		0.71

\*: میانگین‌های اثرات اصلی که حداقل در یک حرف (حروف بزرگ) مشترک‌اند تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ندارند

\*: Main effect means (capital letters) with the same letters have not significant difference at 5% level

جدول ۴: مقایسه میانگین پایه‌های ماده در صفات پوکی و خندانی

Table 4: Mean comparison of females for blank and dehiscence

درختان ماده Female	خندانی* Dehiscence	پوکی* Blank*
کله قوچی Kaleh-ghouchi	0.79c	1.09a
اکبری Akbari	0.95b	0.81b
اوحدی Owhadi	1.05a	0.81b

\*: بر روی این صفات تبدیل جذری  $(\sqrt{x + 0.5})$  انجام شد. در هر صفت میانگین‌هایی را که حداقل در یک حرف مشترک‌اند تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند

\*: Square root transformation  $(\sqrt{x+0.5})$  is done on these characteristics. In each trait means with the same at least for one letters in columns have not significant difference at 5% level

جدول ۵: مقایسه میانگین اثر متقابل پرتوتابی در والد نر برای صفت پوکی

Table 5: Interaction between pollen radiation and male parent for blank character

والد نر Males parent	گرده پرتو دیده Radiated pollen	گرده پرتو ندیده Non-radiated pollen	P <sub>2</sub> -P <sub>1</sub>	LSD
m1	0.9 ab	0.87 b	-0.03	0.06
m2	1.01 a	0.83 b	-0.1*	
m3	0.87 b	0.87 b	-0.01	

\*: معنی‌دار در سطح ۵ درصد. میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد ندارند

\*: Significant at 0.05 level. Means with the same at least for one letters have not significant difference at 5 % level



جدول ۶: نتایج تجزیه ریپید گرده‌های پرتوتابی شده و نشده و سه بالک پسته با استفاده از ده آغازگر تصادفی

Table 6: RAPD analysis of the irradiated and non-irradiated pollen and three bulks of pistachio using ten random primers

نام پرایمر Primer name	توالی پرایمر Primer sequence	باند تولید شده The number of band produced	تعداد مکان تکثیر The number of breeding sites	قدرت تفکیک Resolving power	شاخص تنوع Diversity Index	تعداد مکان چند شکل Polymorphic site	نسبت چندشکلی Polymorphic ratio
UBC-296-915	5'-CCGCTGGGAG-3'	32	10	4.8	3.2	8	0.80
UBC-338-915	5'-CTGTGGCGGT-3'	33	11	5.2	3.36	8	0.73
UBC-400-915	5'-GCCCTGATAT-3'	23	10	6	3.84	9	0.90
UBC-401-915	5'-TAGGACAGTC-3'	16	8	4.4	3.04	8	1.00
UBC-454-915	5'-GCTTACGGCA-3'	24	7	2.4	1.6	4	0.57
UBC-502-915	5'-GCATGGTAGC-3'	33	18	6.8	4.8	14	0.78
UBC-548-915	5'-GTACATGGGC-3'	31	11	4.4	3.2	9	0.82
UBC-577-915	5'-GTCTGATGTG-3'	20	7	2.8	1.92	5	0.71
UBC-582-915	5'-GGTATAGACC-3'	11	3	0.4	0.32	1	0.33
UBC-611-915	5'-CCATCGTACC-3'	17	4	0.8	0.48	1	0.25
جمع Sum		240	86	-	-	67	0.78

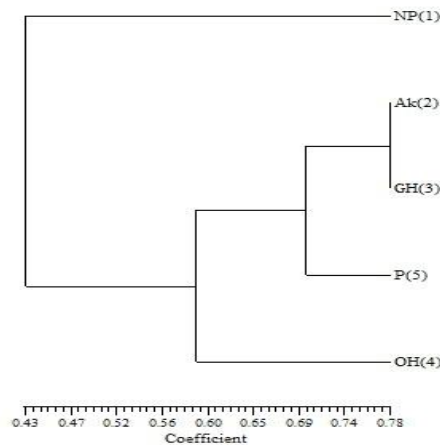
پرتوتابی شده رخ داده است که باعث جدایی گرده پرتوتابی شده و پرتوتابی نشده گردیده و تقریباً ۴۴ درصد از یکدیگر متفاوت شده‌اند، ثانیاً این تغییرات نیز به ژنوم پایه‌های مادری نیز منتقل شده و یا به ارث رسیده است. قرار گرفتن بالک‌های AK و GH در تشابه ۰/۶۹ در گروه گرده پرتوتابی شده و هم‌چنین قرار گرفتن بالک OH در ضریب تشابه ۰/۵۸ در گروه گرده پرتوتابی شده دلیل بر این ادعاست. به‌عنوان مثال باندهایی در اثر پرتوتابی در منبع دانه گرده به‌وجود آمده که در گرده پرتوتابی نشده وجود ندارد (شکل ۳A باند ۱) و (شکل ۳C باند ۱) و این باند در بالک‌های کله‌قوچی، اکبری و اوحدی دیده می‌شود و از طرفی باندهای دو و سه در گرده پرتوتابی نشده وجود دارد که از منبع گرده پرتوتابی شده حذف شده و در بالک‌ها نیز دیده نمی‌شوند (شکل ۳)، هم‌چنین باند یک در شکل ۳B در اثر پرتوتابی از منبع دانه گرده حذف شده و در بالک‌ها مشاهده نمی‌شود. باند سه در بالک‌های اکبری، اوحدی و کله‌قوچی وجود دارد که در گرده‌های پرتوتابی شده و پرتوتابی نشده وجود ندارد که احتمالاً مربوط به پایه‌های مادری است (شکل ۳C). این تغییرات در توالی DNA در اثر پرتوتابی می‌تواند علت گروه‌بندی DNAهای مورد مطالعه باشد و حضور تغییرات در بالک‌ها به ارث رسیدن آن‌ها را تقریباً اثبات می‌کند. آنچه که در دندروگرام مشاهده شد را می‌توان به‌عنوان نمونه مشاهده کرد.

### ب) بررسی تغییرات ژنتیکی DNA حاصل از پرتوتابی لیزر بر روی گرده پسته

آغازگرهای مورد استفاده در کل ژنوتیپ‌ها، ۲۴۰ باند را در ۸۶ مکان تولید کردند، برای تعیین کارایی هر آغازگر در تفکیک ژنوتیپ‌ها و بروز تنوع از نسبت چند شکلی و شاخص تنوع و شاخص تفکیک استفاده شد. براساس این شاخص تنها آغازگر UBC-401-915 نسبت چندشکلی یک (۱۰۰٪) داشت (جدول ۶). بیش‌ترین قدرت تفکیک (۶/۸) و شاخص تنوع (۴/۸) برای آغازگر UBC-502-915 محاسبه شد. همبستگی بین این دو شاخص ۰/۹۹۵ محاسبه گردید که نشان داد آغازگرهای دارای R<sub>b</sub> بیشتر محتوای پلی مورفیک (PIC) بیشتری نیز دارند. آغازگرهای مورد استفاده به‌خوبی توانستند تنوع درون مواد ژنتیکی مورد مطالعه را آشکار نمایند.

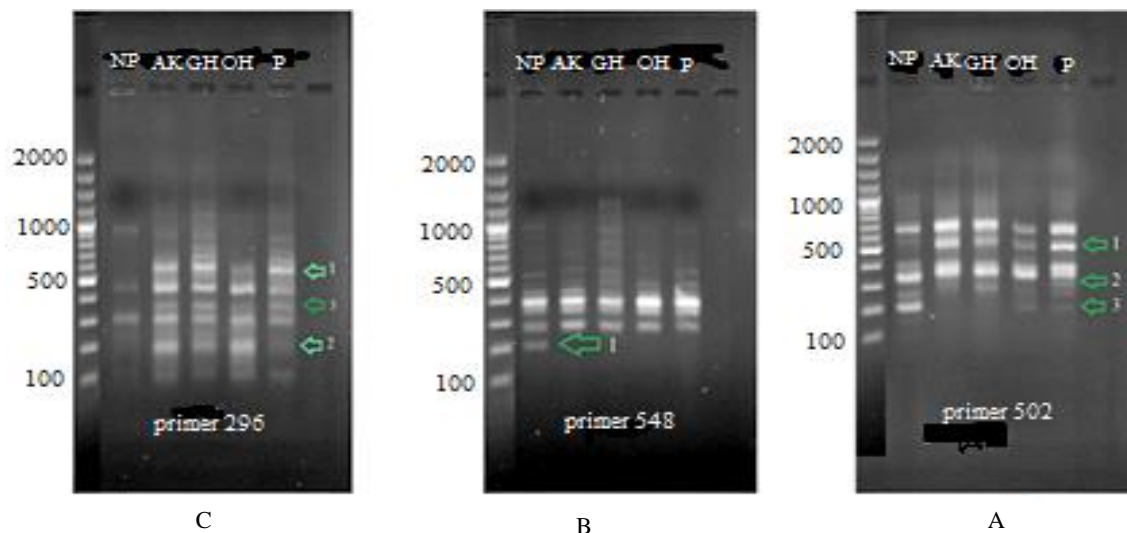
تجزیه خوشه‌ای دامنه تشابه ژنتیکی سه بالک و دو نوع دانه گرده پرتوتابی شده و پرتوتابی نشده پسته را از ۰/۷۸ تا ۰/۴۳ نشان داد که حاصل تغییرات ژنتیکی بر اثر پرتوتابی و هم‌چنین تنوع بین پایه‌های مادری است (شکل ۲).

در ضریب تشابه ۰/۵۶ ژنوتیپ‌ها در دو گروه قرار گرفتند، یک گروه شامل گرده پرتوتابی نشده و یک گروه شامل گرده پرتوتابی شده و بالک‌های (OH)، (GH) و (AK) حاصل از تلاقی گرده پرتوتابی بودند که این گروه‌بندی در ضریب تشابه ۰/۵۶ نشان می‌دهد اولاً تغییرات ژنتیکی زیادی در اثر پرتوتابی لیزر UV در طول موج ۳۰۸ نانومتر در DNA دانه گرده



شکل ۲: دندروگرام تجزیه خوشه‌ای به روش (Complete linkage) با استفاده از ضریب تشابه Simple. NP: گرده پرتوتابی نشده، P: گرده پرتوتابی شده، AK: بالک اکبری، GH: بالک کله قوچی، OH: بالک اوحدی

Fig. 2: Dendrogram of cluster analysis based on complete linkage method and simple matching coefficient. NP: Non-irradiation pollen, P: Irradiation pollen, AK: Akbari bulk, GH: Kaleh-ghouchi bulk and OH: Owhadi bulk)



شکل ۳: به ترتیب از راست به چپ: (A) پرایمر UBC-502-915، (B) پرایمر UBC-548-915 و (C) پرایمر UBC-296-915. بالک اکبری، GH: بالک کله قوچی، OH: بالک اوحدی، NP: گرده پرتوتابی نشده، P: گرده پرتوتابی شده

Fig. 3: From right to left: A) Primer UBC-502-915 B) Primer UBC-548-915 and C) Primer, UBC-296-915 respectively. AK: Akbari bulk, GH: Kaleh-ghouchi bulk, OH: Owhadi bulk, NP: Non-irradiation pollen, P: Irradiation

### نتیجه‌ی کلی

پرتوتابی لیزر اثرات زنبایی مفیدی را در دانه پسته به وجود نیاورد. جز در صفت متوسط وزن دانه در خوشه پسته که در بعضی ارقام موجب افزایش وزن دانه شد. پرتوتابی انواع مختلفی از لیزرها بر روی گیاهان مختلف زراعی اعم از بذر و دانه گرده انجام گرفته است. تغییرات فیزیولوژیکی را در گیاهان حاصل و افزایش میزان رشد گیاهان حاصل از بذور پرتوتابی شده گزارش شده است. به‌طور کلی تاکنون تغییر در توالی DNA توسط پرتوی لیزر، آن هم پرتو لیزر UV با طول موج ۳۰۸ نانومتر در

گیاهی اثبات نشده است. این پژوهش تغییر در توالی DNA را در دانه گرده ثابت کرد. لذا پرتوتابی لیزر قادر به ایجاد تغییر در توالی DNA می‌باشد. از آن می‌توان به‌عنوان پرتو موتاسیون‌زا و ایجادکننده تنوع ژنتیکی در دانه گرده پسته استفاده کرد. این تغییرات ژنتیکی که به نسل بعد منتقل شده است، می‌تواند منشاء تغییرات فنوتیپی در رشد دانه‌های پسته و مقاومت به بعضی از بیماری‌ها گردد. مطالعات بر روی تغییرات فنوتیپی دانه‌های پسته و مقاومت آن‌ها به شوری و برخی بیماری‌ها در اثر پرتوتابی دانه گرده پسته در دست انجام است.

### منابع

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۱۱-۱۲ متن انگلیسی مراجعه شود.