

بررسی ریخت شناسی دانه گرده چند نژادگان گلابی آسیایی بوسیله اسکن با نگاره الکترونی (SEM) و تعیین محیط کشت مناسب برای تندش گرده^۱ STUDY ON POLLEN MORPHOLOGY OF SOME ASIAN PEAR GENOTYPES BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM) AND SUITABLE POLLEN GERMINATION MEDIUM

مینا غزائیان، کاظم ارزانی و احمد معینی^۲

چکیده

در این پژوهش ریخت شناسی^۳ گرده با استفاده از اسکن با میکروسکوپ الکترونی و نیز تعیین محیط کشت مناسب جهت تندش گرده مورد بررسی قرار گرفته است. در بررسی های صورت گرفته روی گرده نژادگان های 'KS₆'، 'KS₇'، 'KS₈'، 'KS₉'، 'KS₁₀'، 'KS₁₁'، 'KS₁₂'، 'KS₁₃'، 'KS₁₄' با نگاره الکترونی نتایج نشان داد که گرده همه ارقام دارای ۳ شیار طولی در سطح خود بودند که امتداد آن تا قطبین اندازه گیری شده است و تغییرهای طول محور قطبی از ۲۹/۴۶ تا ۵۸/۲۰ میکرومتر و محور استوایی از ۱۶/۷۰ تا ۴۶/۶۰ میکرومتر بوده است. همچنین برای دستیابی به ترکیب مناسب محیط کشت برای تندش درون شیشه ای دانه های گرده، دانه گرده ۳ نژادگان 'KS₇'، 'KS₁₀'، 'KS₁₁' در محیط های کشت دارای غلظت های مختلف بوریک اسید (صفر، ۱۰، ۴۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر)، نیترات کلسیم (صفر، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر) و سوکروز (۱۵ و ۲۵٪) قرار داده شدند. نتایج نشان داد که بهترین محیط تندش شامل ۱۵٪ سوکروز، صفر میلی گرم در لیتر بوریک اسید و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر نیترات کلسیم می باشد.
واژه های کلیدی: تندش درون شیشه ای گرده، ریخت شناسی گرده، گلابی آسیایی، محیط کشت.

مقدمه

علم گرده شناسی علم بررسی دانه های گرده و هاگ ها است. دسترسی به SEM^۴ و انگیزش ناشی از کاربرد آن باعث شد که دانشمندان علم رده بندی^۵ دانه های گرده را به عنوان منبعی از ویژگی ها در نظر گیرند (۱۲). معرفی و رده بندی ارقام درختان میوه، کاری مشکل و پیچیده است و این به سبب وجود تعداد زیادی اسم و مترادف های آن ها است که با هم کد بندی نشده اند. بنابراین گاهی ممکن است ارقام مختلف با یک نام مشخص شده باشند و یا یک رقم در منطقه دیگر یا همان منطقه با نام های مختلف شناخته شود. این مشکلات در معرفی

۱- تاریخ دریافت: ۸۵/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸۶/۵/۳۱

۲- دانشجوی پیشین کارشناسی ارشد، دانشیار گروه علوم باغبانی و استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، جمهوری اسلامی ایران.

۳- Morphology – ۲ ۴- Scanning Electron Microscopy (SEM) – ۴ ۵- Taxonomists – ۵

یک رقم، ناشی از این واقعیت است که نشانگرهای بیولوژیکی و بیوشیمیایی برای معرفی کامل وجود ندارد و این در حالیست که عوامل محیطی و زراعی می توانند بر تغییرهای فنوتیپی اثر گذاشته و در نتیجه معرفی یک گیاه را غیر قابل اطمینان کنند (۱۶،۱۱).

استانلی و لینسکنز^۱ (۲۵) نتیجه گرفتند که الگوی روگرده به صورت ژنتیکی برای گونه های مختلف گیاهی ثابت است و می تواند برای معرفی آن ها در گرده های فسیل و یا گرده های تازه مورد استفاده قرار بگیرد.

ویژگی های رده بندی موجود در دانه های گرده شامل ریخت شناسی دیواره گرده، قطبیت، تقارن، شکل و اندازه آن ها است. اغلب، بیشتر جنس ها و گونه ها از نظر دانه گرده با یکدیگر تفاوتی ندارند اما در بعضی جنس ها نیز تفاوت هایی یافت شده است (۲۱). پژوهش روی دانه گرده ارقام گلایی نشان داده است که تفاوت های زیادی در بین ارقام مختلف مورد بررسی وجود داشته است و ویژگی های گرده نشانگر ارتباط بین گونه و گسترش آن ها است (۱۹). پژوهش های مشابهی نیز توسط ژانگ و همکاران (۲۹) روی نژادگان های (ژنوتیپ های) بومی گلایی در چین بوسیله نگاره الکترونی صورت گرفته که نتایج آن نشان دهنده وجود اختلاف در بین گرده گونه های مختلف است.

دسته بندی شکل دانه گرده توسط ارتمن^۲ (۷) بر اساس نسبت بین طول محور قطبی و پهناي استوائی صورت گرفته است، که بر این اساس دانه های گرده در هشت گروه قرار می گیرند که کمترین نسبت ۰/۵ و بیشترین نسبت ۲ می باشد. با توجه به اهمیت روز افزون کشت و تولید گلایی آسیایی در سطح جهانی و ناشناخته بودن این گیاه در ایران و از سویی اهمیت توجه به صادرات غیرنفتی که در رأس آن ها می تواند محصولات باغی باشد، لزوم انجام پژوهش های اولیه برای بررسی سازگاری این درختان با شرایط آب و هوایی ایران از یک سو و انجام کارهای بهنژادی برای رسیدن به عملکرد مطلوب از سوی دیگر، احساس می شود. هم اکنون بر اساس آخرین آمار اعلام شده توسط سازمان خوار و بار جهانی (FAO)^۳ در سال ۲۰۰۴ میلادی، میزان تولید گلایی در سطح جهانی معادل ۱۷۹۰۹۴۹۶ میلیون تن بوده است که چین با تولید ۱۰۰۲۹۳۱۷/۷۶ میلیون تن معادل ۵۶٪ از میزان تولید جهانی رتبه اول را به خود اختصاص داده و پس از آن ایتالیا و آمریکا با تولید ۸۹۵۴۷۴/۸ میلیون تن معادل ۵٪ کل تولید جهانی در رتبه دوم، اسپانیا با تولید ۷۱۶۳۷۹/۸۴ میلیون تن معادل ۴٪ کل تولید جهانی در جایگاه سوم و آلمان و آرژانتین با تولید ۵۳۷۲۸۴/۸۸ میلیون تن معادل ۳٪ کل تولید جهانی در رتبه پنجم قرار دارند.

از آنجا که ثابت شده است دانه های گرده منبع ژنتیکی مهمی در کارهای بهنژادی برای انجام دوره گیری و نیز منبع قابل توجهی از نظر داشتن ویژگی های ظاهری منحصر به فرد برای استفاده در شناسایی ارقام و گونه های درختان میوه و سایر گیاهان هستند (۱۰)، در این پژوهش به بررسی ویژگی های ریخت شناسی سطح دانه های گرده و ویژگی های همچون طول محور قطبی (P)، پهناي استوائی (E) و نسبت محور قطبی به پهناي استوائی در بین نژادگان های گلایی آسیایی در دسترس پرداخته شده تا بتوان با استفاده از نتایج به وجود تفاوت ها بین نژادگان های مختلف پی برد.

تندیدن دانه های گرده یکی از مهم ترین عوامل موثر در باروری است و این مسأله در تولید ارقام دو رگ بسیار مهم است. تندش دانه های گرده را به دو صورت تندش درون زنده ای^۱ و تندش درون شیشه ای^۲ می توان بررسی کرد. عوامل گوناگونی بر تندش درون شیشه ای دانه های گرده مؤثر هستند. بعضی از دانه های گرده برای تندش فقط به آب و قند نیاز دارند. گرده تعدادی از گیاهان به محیط کشت کامل تری شامل قند، آگار، بور (B) و نیترات کلسیم با pH مناسب نیاز دارند. عنصر بور تندش درون شیشه ای گرده را تحریک می کند. ترشحات کلالة که به عنوان محرک تندش شناخته شده است، حاوی مقدار زیادی بور است ولی برخی معتقدند که گرده بعضی گونه های گیاهی حتی در آب مقطر نیز به راحتی می تندند (۲۰). در زردآلو بور در غلظت ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر سبب افزایش تندش و رشد لوله گرده شد و غلظت بیشتر اثر بازدارنده داشته است (۳). وجود عناصر سنگین مثل مس، نیکل، کبالت و سرب در غلظت های ۵۰ تا ۲۵۰ میلی گرم در لیتر در محیط کشت سبب کاهش تندش دانه های گرده می شود (۲۲). بیشتر آزمون های زیوایی^۳ گرده به وسیله تندیدن نمونه ای از گرده و مشاهده زیر نگاره و محاسبه درصد تندش صورت می گیرد. این درصد شاخص زیوایی گرده می باشد. در این روش فرض بر این است که شرایط مطلوب برای آزمون تندش درون شیشه ای فراهم شده است که با شرایط تندش در محیط طبیعی به تقریب مشابه است. عوامل مختلفی مثل رطوبت، دما، قندها، عصاره گیاهی، تنظیم کننده های رشد گیاهی، عناصر معدنی، و pH بر تندش دانه های گرده تأثیر دارند (۲، ۵، ۶، ۹، ۱۵، ۱۷، ۲۸). برای تعیین زیوایی گرده از سه روش عمده استفاده میگردد: ۱- رنگ آمیزی دانه گرده، ۲- تندش درون شیشه ای، ۳- تندش درون زنده ای (۱۰).

هدف از پژوهش حاضر، استفاده از کشت درون شیشه ای برای بررسی زیوایی دانه های گرده ۳ نژادگان گلابی آسیایی شامل KS7, KS10, KS11 بود تا بهترین ترکیب محیط کشت تندش دانه های گرده این نژادگان ها به دست آید.

مواد و روش ها

در این پژوهش دو سری آزمایش انجام شد که آزمون اول شامل بررسی ریخت شناسی گرده ها و مشاهده با نگاره الکترونی بوده است و آزمون دوم شامل تهیه محیط کشت و تعیین میزان تندش گرده ها و بررسی اثرهای محیط های کشت مختلف بوده است.

الف- آزمون اول

۱-۲- جمع آوری گرده ها برای اسکن با نگاره الکترونی

آزمایش روی ۹ نژادگان گلابی آسیایی به نام های KS6, KS7, KS8, KS9, KS10, KS11, KS12, KS13, KS14 صورت گرفت. این درختان در تابستان سال ۱۳۷۷ توسط گروه باغبانی دانشگاه تربیت مدرس و در قالب طرح ملی به شماره ۴۲۲۵ مصوب شورای پژوهش های علمی کشور به ایران وارد شده است و در باغ پژوهشی دانشکده کشاورزی تربیت مدرس کشت گردیده اند.

در فروردین ماه سال های ۱۳۸۱ و ۱۳۸۲ گل ها در مرحله بالنی شکل یا پاپ کورنی^۱ (مرحله ای که در آن گل ها به طور کامل برآمده بوده و در آستانه شکوفایی قرار داشتند) از درختان جدا شدند (۱۳). برای اطمینان بیشتر از آمیخته نشدن دانه های گرده نژادگان های مختلف، شاخه ها از پیش به وسیله کیسه های پارچه ای پوشانده شده بودند تا از امکان هرگونه گرده افشانی خارجی جلوگیری شود. این شاخه ها در سوها و زوایای مختلف درخت انتخاب شده بودند. پس از انتقال گل ها به آزمایشگاه بساک ها جدا شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه نگه داری شدند و سپس گرده ها از بساک های خشک شده جمع آوری شد و در ظروف شیشه ای در بسته درون رطوبت گیر در یخچال قرار داده شدند. انجام این کار به این سبب است که رطوبت باقی مانده در گرده ها باعث فساد آن ها نشود. بنابر این گرده ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد و در رطوبت گیر دارای سیلیکا ژل قرار داده شدند.

۲-۲- مراحل آماده سازی گرده برای اسکن با SEM

جهت آماده سازی نمونه ها برای مشاهده با نگاره الکترونی بر اساس روش های پسینی و ووسا^۲ (۲۳) محلولی با نسبت ۱ به ۱ از کلروفرم و دی سولفید کربن تهیه شده و روی دانه های گرده ریخته شد به صورتی که گرده ها در آن غوطه ور بودند. این نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه روی لیزاننده دورانی قرار گرفتند. پس از این مدت محلول از گرده ها جدا شده و گرده ها در دمای آزمایشگاه روی کاغذ خشک کن قرار گرفته و خشک شدند. سپس این گرده ها برای مشاهده با نگاره الکترونی مورد استفاده قرار گرفتند. برای انجام اسکن گرده ها به وسیله نوارچسب دو طرفه روی پایه های آلومینیومی دستگاه ثابت شدند. دانه های گرده با استفاده از نگاره الکترونی مدل Stereoscan 360 با ولتاژ 20 kv و بزرگنمایی ۲۰۰۰ برابر برای مشاهده عمومی گرده ها عکسبرداری شدند. ویژگی های مورد اندازه گیری عبارت بودند از طول محور قطبی (P)، پهنای استوایی (E) و نسبت P به E. محور قطبی اندازه گیری شده در این آزمایش ها عبارت است از بزرگترین فاصله بین دو نقطه آزاد روی سطح دانه گرده، به طوری که این خط از مرکز دانه گرده می گذرد؛ و پهنای استوایی اندازه گیری شده عبارت است از کمترین فاصله بین دو نقطه آزاد روی سطح دانه گرده به طوری که این خط از مرکز دانه گرده می گذرد (۱۶).

ب - آزمون دوم

۲-۳- جمع آوری گرده برای کشت درون شیشه ای

در این بررسی برای تعیین بهترین محیط کشت برای تندش دانه های گرده ، از گرده نژادگان های گللابی آسیایی با نام های KS7 , KS10 , KS11 استفاده شد. پس از انتقال غنچه ها به آزمایشگاه، بساک ها جدا شده و روی کاغذ واتمن به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه گذاشته شده تا خشک شوند. سپس، بساک های خشک شده روی یک غربال تمیز و گندزدایی شده ریخته شده و با تکان دادن، گرده ها از بساک ها جدا شدند و به تقریباً ۱ گرم از آنها به درون ظروف شیشه ای کوچک منتقل شده و سپس درون رطوبت گیر و در یخچال و دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال ، دانه های گرده در محیط کشت های آماده شده، کشت شدند. شایان

ذکر است که در تمام مراحل کار برای اطمینان از آمیخته نشدن گرده ارقام مختلف دست ها و وسایل مورد استفاده هر بار بوسیله الکل ۷۰٪ گندزدایی می گردید.

برای تهیه محیط کشت، ابتدا محلول های مادری نمک های سولفات منیزیم، نیترات پتاسیم، بوریک اسید و نیترات کلسیم به طور جداگانه تهیه شدند. سپس ترکیبات لازم بر حسب نوع تیمار درون یک ارلن ریخته شده و پس از افزودن سوکروز و آگار و به حجم رساندن محیط کشت با آب یکبار تقطیر شده، pH محیط روی ۵/۷ تنظیم گردید. محیط های کشت به مدت ۱۵ دقیقه و در فشار ۱/۲ بار و دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد اتو کلاو شدند و سپس در پتری دیش های یکبار مصرف با قطر ۸ سانتیمتر به میزان ۵ میلی لیتر در هر پتری دیش به طور یکنواخت توزیع شدند. پتری دیش های دارای محیط کشت تا زمان استفاده درون پلاستیک محافظ غذا نگهداری شدند.

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل ۴ فاکتوره و در قالب طرح پایه به طور کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول (A) شامل دو سطح $a_1 = 15\%$ و $a_2 = 25\%$ سوکروز، فاکتور دوم (B) شامل ۴ چهار سطح صفر $b_1 = 10$ ، $b_2 = 40$ ، $b_3 = 100$ و $b_4 = 100$ میلی گرم در لیتر بوریک اسید، فاکتور سوم (C) شامل سه سطح صفر $c_1 = 200$ ، $c_2 = 300$ و $c_3 = 300$ میلی گرم در لیتر نیترات کلسیم و فاکتور چهارم (D) در سه سطح و شامل دانه های گرده نژادگان های $d_1 = KS_7$ ، $d_2 = KS_{10}$ ، $d_3 = KS_{11}$ بودند. در تمام تیمارها مقادیر ۱٪ آگار، ۲۰۰ میلی گرم در لیتر سولفات منیزیم و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نیترات پتاسیم ثابت بود.

دانه های گرده بوسیله قلم موی نرم روی محیط های کشت پاشیده شدند و سپس پتری دیش ها با پارافیلیم درزگیری شدند و درون انکوباتور در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند (۲۴). پس از ۱۲ تا ۱۳ ساعت، به روش افشانه دانه های گرده با استیک اسید ۴۵٪، رشد آن ها تثبیت شد (۱).

پتری دیش ها تا زمان بررسی در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شدند. برای محاسبه درصد تندش پتری دیش ها در زیر میکروسکوپ با عدسی شیئی ۴۰ برابر بررسی شدند. در ۸ میدان دید زیر میکروسکوپ که به طور تصادفی گزیده شده بودند، درصد تندش ۴۰۰ عدد دانه گرده محاسبه شد. دانه گرده ای تندیده محسوب شد که طول لوله گرده آن برابر یا بیشتر از قطر دانه گرده بود (۱۰) و درصد تندش دانه های گرده به وسیله فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{درصد تندش گرده} = \frac{100 \times \text{تعداد دانه های گرده تندیده}}{400}$$

نتایج

۳-۱- نتایج آزمون اول (اسکن با نگاره الکترونی)

نتایج به دست آمده از بررسی ویژگی های دانه گرده ۹ نژادگان گلابی آسیایی توسط SEM در جدول ۱ آورده شده است. براساس نتایج به دست آمده از جدول ۱ بیشترین طول محور قطبی (P) در گرده نژادگان KS_{13} و بیشترین پهنای استوایی (E) در گرده نژادگان KS_{14} بوده است. بیشترین نسبت P به E نیز در گرده نژادگان KS_{11} دیده شد. همه گرده ها دارای ۳ شیار طولی در سطوح خود بودند که امتداد آن تا قطبین اندازه گیری شد و

بدین ترتیب جزء گرده‌های tricolporate می‌باشند و بدون روزنه روی سطوح شیارها می‌باشند، اما روی سطح روگرده^۱ روزنه‌هایی دیده می‌شود (شکل ۱).

تمامی گرده‌ها دارای شکل prolate هستند، که خود دارای تقسیماتی است. براساس دسته بندی ارتمن (۷)، گرده نژادگان های KS₁₃ , KS₆ , KS₁₁ دارای شکل perprolate، نژادگان های KS₇ , KS₁₂ , KS₈ دارای شکل prolate و نژادگان های KS₉ , KS₁₀ دارای شکل subprolate و گرده نژادگان KS₁₄ از نوع spheron می‌باشند.

جدول ۱- تعیین شکل گرده‌ها بر اساس دسته بندی ارتمن.

Table 1. Determination of the pollen shape according to Erdtman classification.

نژادگان Genotype	طول محور قطبی (میکرومتر) Polar Axis (μm)	پهنای استوایی (میکرومتر) Equatorial Axis(μm)	$\frac{P}{E}$	شکل Shape
KS ₆	42.50±3.09	20.5±3.35	2.11	Perprolate
KS ₇	40.3±5.9	21.00±0.20	1.91	Prolate
KS ₈	44.2±2.7	22.80±0.80	1.93	Prolate
KS ₉	45.20±4.37	39.37±1.46	1.14	Subprolate
KS ₁₀	31.60±3.6	25.75±3.55	1.22	Subprolate
KS ₁₁	58.20±0.20	26.16±0.01	2.22	Perprolate
KS ₁₂	55.35±2.85	33.53±4.37	1.65	Prolate
KS ₁₃	58.33±5.83	29.16±2.91	2	Perprolate
KS ₁₄	51.05±4.35	45.22±1.47	1.12	Prolate Spheroidal

۳-۲- نتایج آزمون دوم (بررسی تندش درون شیشه ای دانه های گرده)

درصد میانگین‌های به دست آمده از داده‌های آزمایشی پیش از تجزیه آماری، نرمال شده و سپس با استفاده از نرم افزار SPSS11 آنالیز گردیده و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شدند. مقایسه میانگین‌ها در سطح ۵٪ و ۱٪ توسط آزمون دانکن انجام شد. با توجه به معنی دار شدن برهمکنش‌های چهارگانه، سایر اثرها مورد بحث قرار نمی‌گیرند و تنها مقایسه میانگین برهمکنش چهارگانه ارائه شده است. بر اساس نتایج به دست آمده، بیشترین تندش به میزان ۸۹/۲٪ در محیط کشت با ترکیب ۱۵٪ سوکروز، ۳۰۰ میلی گرم در لیتر نیترات کلسیم دیده شد که مربوط به نژادگان KS₇ بوده است و نژادگان های KS₁₀ و KS₁₁ در این ترکیب محیط کشت به ترتیب دارای تندش ۸۰/۰۸۳ و ۸۲/۶۶۷ بوده اند.

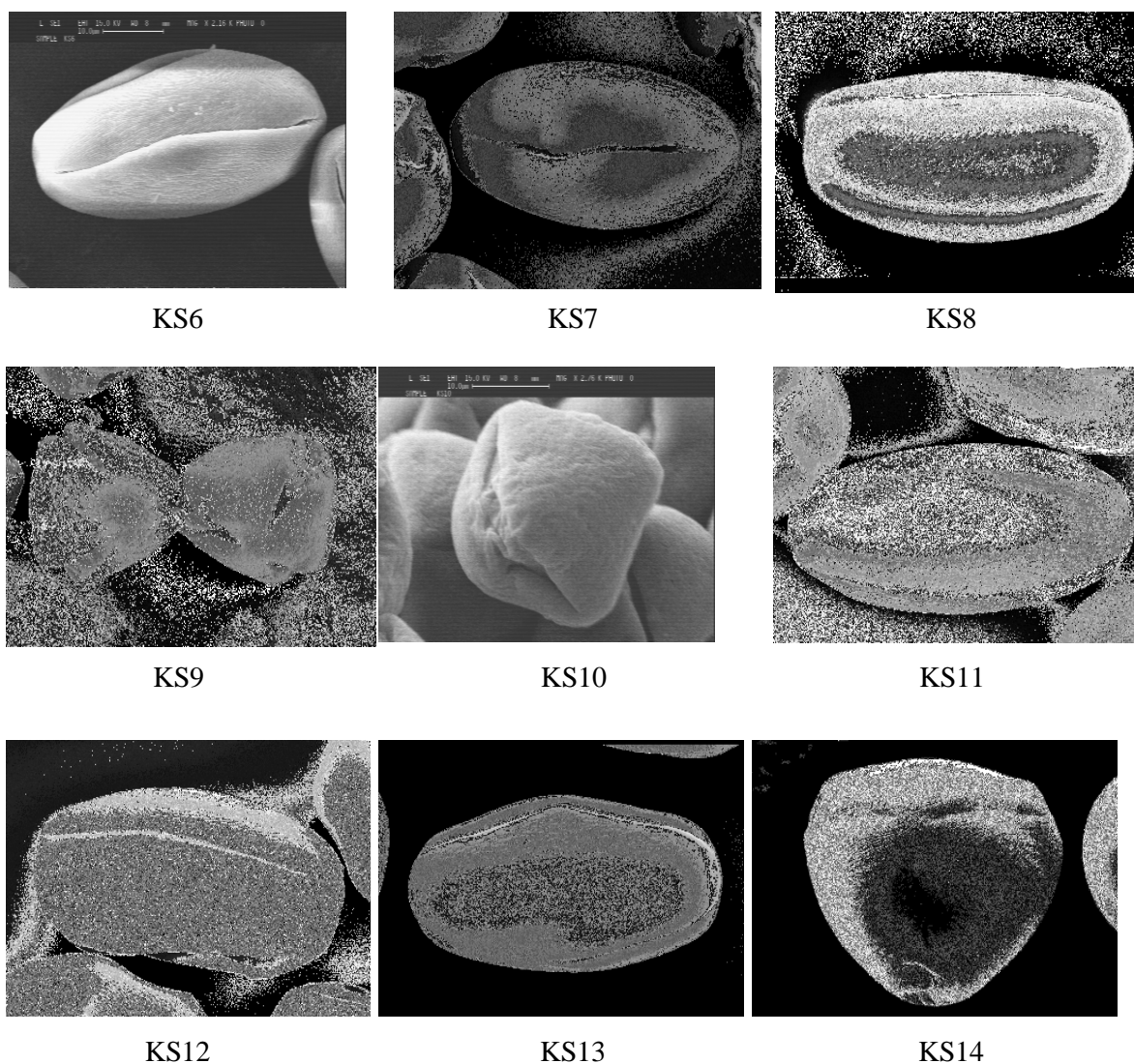


Fig. 1. Pollen morphology of nine genotypes (KS6 to KS14) by scanning electron microscopy (2000X).

شکل ۱ - ریخت شناسی گرده‌های ۹ نژادگان (KS6 تا KS14) به وسیله اسکن با میکروسکپ الکترونی (۲۰۰۰ برابر)

بحث

این پژوهش تأیید کننده نتایج ژانگ و همکاران^۱ (۲۹) است. آن‌ها گزارش نمودند که بین ارقام گلایی از نظر طول محور قطبی (P) و پهناي استوایی (E) و نسبت P به E اختلاف وجود دارد. بر اساس گزارش آن‌ها طول محور قطبی از ۳۷/۵ تا ۵۰ میکرومتر و پهناي استوایی از ۲۰/۸ تا ۲۵ میکرومتر متفاوت بود و دانه‌های گرده از نوع Tricolporate بودند. همچنین دارای تزئیناتی به شکل خط دار که منافذی در سطح آن‌ها دیده شد، داشتند و همه گرده‌ها از نوع Prolate spheroid بودند. همچنین نتایج پژوهش‌های ژو و همکاران^۲ (۳۰) روی ارقام گلایی

نشان داد که شکل گرده در بین ارقام مختلف از subspheroidal تا prolate متفاوت است و گرده ها از نوع tricolporate می باشند. همچنین نتیجه گرفتند که از تفاوت های موجود در سطح الگوی روگرده می توان در رده بندی و تعیین منشأ و سیر تکاملی گونه های مختلف و ارقام آن ها استفاده کرد. بررسی گرده ها به وسیله اسکن با نگاره الکترونی در گیاهان زیادی صورت گرفته است و گزارش های زیادی پیرامون توانایی استفاده از نتایج این بررسی ها در کارهای بهنژادی و رده بندی وجود دارد، (۸).

در بررسی ترکیب محیط کشت موثر بر تندش گرده تعدادی از ارقام گلابی آسیایی (*Pyrus pyrifolia*) اثر غلظت های مختلفی از سوکروز، بوریک اسید، و نترات کلسیم مورد توجه قرار گرفتند. نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که در گلابی آسیایی غلظت ۱۵٪ سوکروز مناسب است که این با گزارش اتی^۱ (۸) که غلظت ۱۵ تا ۲۰٪ را برای بهبود تندش گرده گلابی توصیه می کند، همسویی دارد.

پیرامون تاثیر قندها بر تندش نظرهای متفاوتی وجود دارد. برخی از پژوهشگران همچون بروبیکر و کواک^۲ (۴) نقش قندها را در زمینه تامین انرژی متابولیسی می دانند چرا که وجود قندها به عنوان تنظیم کننده فشار اسمزی و تامین کننده انرژی لازم باعث تقویت تندش گرده می گردد. این در حالی است که کیم و همکاران^۳ (۱۴) نقش قندها را کم اهمیت دانستند چراکه در آزمون های آن ها وجود برخی از قندها از تندش گرده جلوگیری کرد.

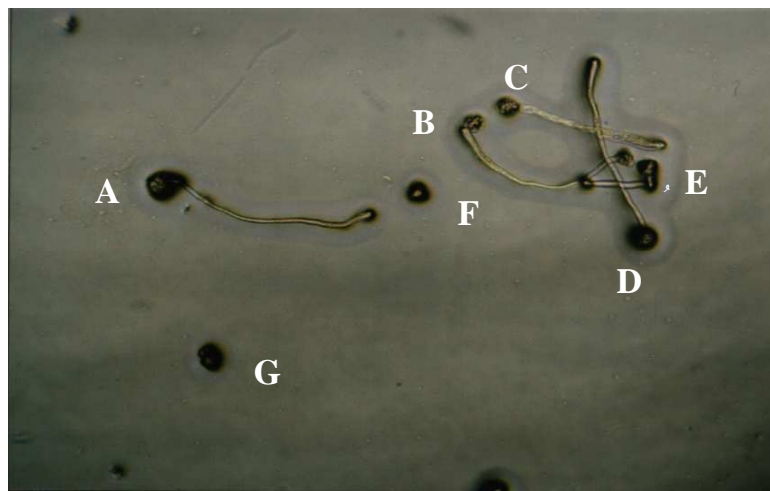


Fig. 2. germinated pollen (40X) A, B, C, D and E are germinated pollens and G and F are non-germinated pollen grains.

شکل ۲ - دانه های گرده تنیده (با بزرگنمایی ۴۰ برابر). A, B, C, D, E دانه های گرده تنیده و G و F دانه های گرده ننتنیده اند.

پیرامون تأثیر بور بر تندش دانه های گرده ، نتایج آزمون حاضر نشان می دهد که مقدار بور در کمترین میزان یعنی غلظت صفر میلی گرم در لیتر ، بیشتر از سایر تیمارهای به کار رفته بور بر تندش اثر داشته است و افزایش غلظت آن تا ۱۰۰ میلی گرم در لیتر باعث کاهش تنیدین شده و این نتایج از این جهت که در تحریک تندش گرده گلابی مقادیر پائین بور گزارش شده است تطابق دارد، همچنان که در نتایج گزارش شده توسط اتی

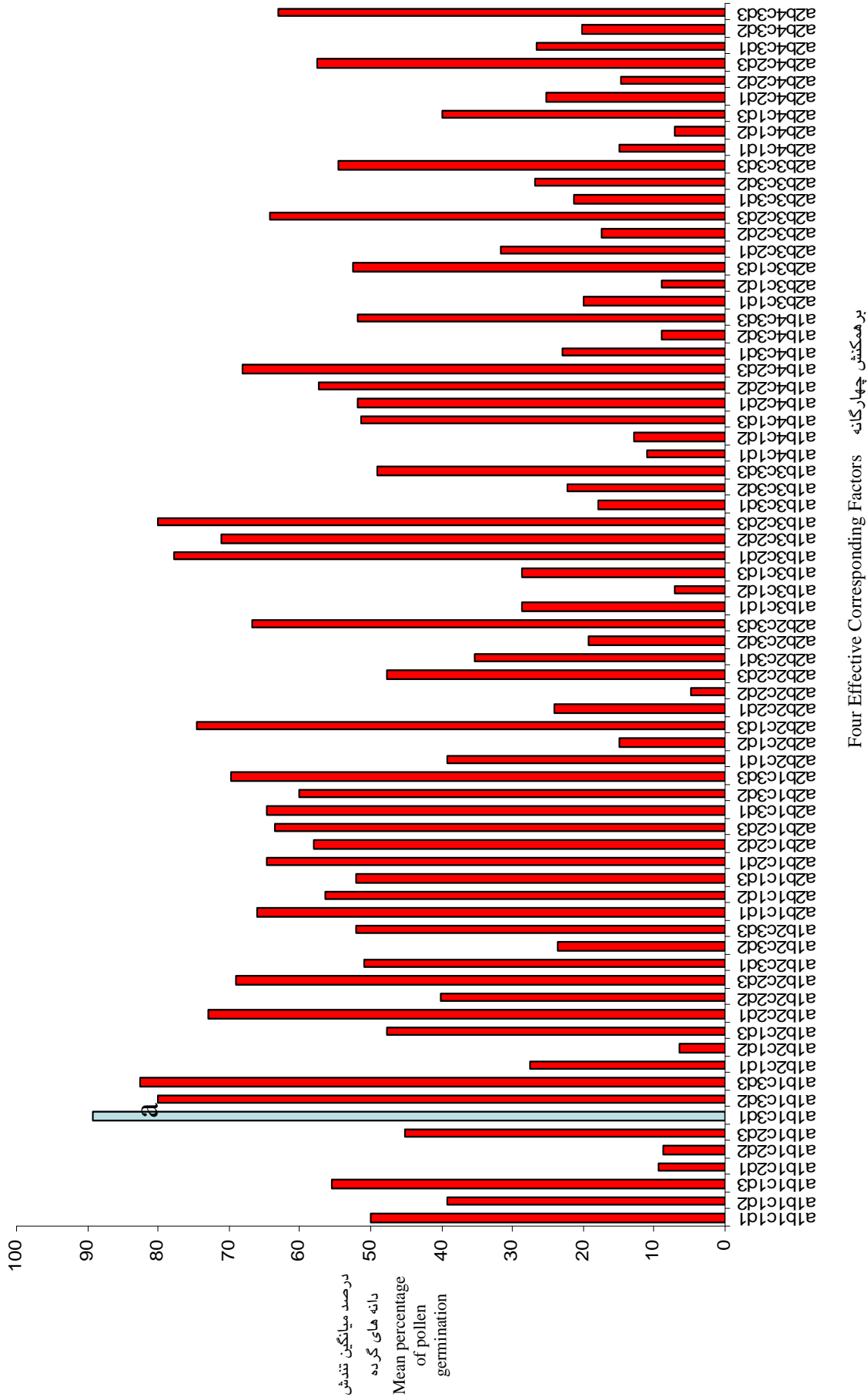


Fig. 3. Comparison between means of the four effective corresponding factors on pollen germination.

شکل ۳ - مقایسه میانگین برهمکنش های چهارگانه تندش دانه های گرده.

(۸) غلظت ۵ میلی گرم در لیتر بور مناسب شناخته شده است، در آزمایشی که توسط گروه لی و همکاران (۱۸) انجام شده، غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر بوریک اسید در محیط کشت بهترین نتیجه را در بر داشته است. بنابراین پیشنهاد می گردد مقادیر بور در فاصله صفر تا یک میلی گرم برای بررسی تاثیر بر تندش مورد سنجش قرار گیرد.

بسیاری از پژوهشگران وجود بوریک اسید در محیط کشت را عامل محرک تندش دانه گرده دانسته و برخی دیگر معتقدند وجود بوریک اسید در محیط کشت روی درصد تندش و طول شدن لوله های گرده تاثیر می گذارد. ویسر (۲۶) بیان می کند اثر بور روی تندش به صورت مثبت با دما و به طور منفی با غلظت قند در ارتباط است. این در حالی است که برخی دیگر از پژوهشگران معتقدند بور جذب سوکروز را افزایش می دهد. بنابراین احتمال دارد اثر تحریک کنندگی بور بر رشد لوله گرده در ارتباط با متابولیسم کربوهیدرات ها باشد (۲۷). در مورد اثر کلسیم بر تندش دانه های گرده، در این پژوهش غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر نیترات کلسیم مناسب تر بوده و تاثیر مثبتی بر افزایش جوانه زنی دانه های گرده داشت. همچنین پیرامون اثرهای این عنصر گزارشی در بررسی منابع به دست نیامد، ولی در این آزمایش ها بهترین تندش دانه های گرده در غلظت ۳۰۰ میلی گرم در لیتر نیترات کلسیم به دست آمد.

در مورد اثر کلسیم بر تندش دانه گرده نظرهای متفاوتی وجود دارد. لینسکنز^۱ (۲۰) به نقل از بروبیگر و کواک^۲ (۴) می گوید، کلسیم در افزایش تندش دانه های گرده موثر است، در حالی که ویاتزی^۳ (۲۷) عدم تاثیر کلسیم در افزایش تندش دانه گرده رز را گزارش کرده است. به نظر می رسد بهبود تندش و رشد لوله گرده با باند شدن کلسیم به گروه های پکتات کربوکسیل در طول دیواره گرده همراه است (۴).

بین دانه گرده ارقام مختلف گلابی آسیایی از نظر تندش و رشد لوله گرده اختلاف وجود دارد. به طوری که نتایج پژوهش های حاضر هم نشان داد که بیشترین مقدار تندش را نژادگان KS7 با مقدار ۸۹/۲٪ نشان داد و نشان می دهد که این ویژگی تحت تاثیر نژادگان گیاه نیز می باشد.

REFERENCES

منابع

- ۱- نصیبی ، زهرا. (۱۳۷۷). بررسی تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی بر رشد گرده تعدادی از بازدانگان و نهاندانگان. پایان نامه کارشناسی ارشد زیست شناسی ، دانشگاه تربیت مدرس.
2. Bhat, S.S.and M.J. Ratnambal.1997. Factors affecting *in vitro* germination and storage of coconut pollen.J. Plantation Crops 25:77-82.
3. Bolat, I.,L. Pirlak and H. Iney.1997.The effect of some chemical substances on pollen germination and tube growth in apricot. XI th. Int. Symp. Apricot Cult. Veria, Greek.

4. Brewbaker, J.L, and B.H. Kwack.1963.The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth .Amer. J.Bot. 50:859-865.
5. Cerovic, R. and D.Ruzic .1992 .Pollen tube growth in sour cherry (*Prunus cerasus*) at different temperature. J. Hort. Sci. 67:333-340.
6. Egea,J., L.Burgos and L.Egea .1992. Influence of temperature on the *in vitro* pollen germination of apricot (*Prunus armenica*).J. Hort. Sci, 67:247-250.
7. Erdtman, G. 1971. Pollen morphology and plant taxonomy. Vol 1, (Angiosperm). Honifer, New York, U.S.A. 553 p.
8. Eti , S. 1996. Investigation on the fertilization biology of some foreign pear cultivars. Bache, 25:1-2, 11-19.
9. Ifteni,L.,M.Mitu, L.Toma.1972.Some aspect of pollen biology in some pear cultivars (*Pyrus sativa*). Lucrari-Stinrifce, Intitutul-Agronomic. 269-247.
10. Janick , J. and J.N. Moor . 1996. Fruit Breeding. Vol 1. John Wiley and Sons, Inc., New York, U.S.A. 250 p.
11. Javady, T. and K. Arzani. 2001. Pollen morphology of five Iranian olive (*olea europaea L.*) cultivars. J. Agr. Sci Technol. 3:37- 42.
12. Jones, S.B. and A.E. Luchsinger. 1979. Plant Systematic. McGraw–Hill Pub., New York, U.S.A. 250 p.
13. Kaufmane,E. And K.Rumpunen. 2002. Pollination,pollen tube growth and fertilization in Japanese quince. Sci. Hort. 94:257-271.
14. Kim,S.K., H.B.Lagerstedt and L. S. Delay.1985.Germinatin response of filbert pollen to pH, temperature, glucose, fructose, sucrose. Hort. Sci, 20:944-946.
15. Kwan,S.C., A.R.Hamson and W.F.Campbell.1996. The effect of different chemicals on pollen germination and tube growth in *Allium cepa*. L. J. Amer. Hort.Sci. 94:561-562.
16. Lanza, B., V. Marsilio and N. Martinelli.1996. Olive pollen ultrastructurization of exine pattern through image analysis-scanning electron microscopy (IA-SEM).Sci. Hort. 65:283-294
17. Lee,.C.W., G.C.Thomas and S.L. Buchmann.1985. Factor effecting *in vitro* germination and storage of Jojoba pollen .J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110:670-676.
18. Li , Dazhi., S. Xie, Y.R. Wei, X. Luo, DZ. Li, Sx. Xie, Y.R. Wei and Xs. Luo. 1999. Studies on pollen viability of pears in Hunan. J. Hunan Agr.Univ. 25:184-187.
19. Li, Xiugen., J. Yang , XG. Li and J. Yang. 2002. Application of numerical taxonomy of pollen morphology on origination , evolution and classification of *Pyrus L.* in China. J. Fruit Sci. 19:3,145-148.

20. Linskens , H.F. 1964. Pollen physiology and fertilization. North–Holland Publishing Company, The Netherlands. 168 p.
21. Marcucci, M.C., S. Sansavini, Ciampolini and M. Cresti. 1984. Distinguishing apple clones and cultivars by surface morphology and pollen physiology. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109:10-19.
22. Neelam,V., S.V.S. Chauhan and N.Varshney. 1997. Effect of some heavy metals on *in vitro* pollen germination in balsam (*Impation balsamina*). J. Palinology 33:173-176.
23. Pacini , E., and C.G. Vosa. 1979. Scanning electron microscopy analysis of exine patterns in cultivars of olive. Annu. Bot. 44:745-748.
24. Rohitha., B.H. and D.J. Klinac. 1994. Some observation on the influence of temperature on the germination of pollen on excised nashi (*Pyrus serotina*) flower. New Zeland J. Crop Hort. Sci. 22:339-342.
25. Stanley, R.G. and H.F. Linskens. 1974. Pollen: Biology, Biochemistry Management. Springer Verlag, Berlin and New York, U.S.A. 300 p.
26. Visser, T. 1955. Germination and storage of pollen. Med. Landbouwhoge School Wageningen, The Netherlands. 55:1-68.
27. Voyiatzi, C.I. 1995. An assessment of the *in vitro* germination of pollen grains of five tea hybrid rose cultivars. Euphytica 83:199-204.
28. Yates, I.E. and D.Sparks. 1989. Hydration and temperature influence *in vitro* germination of pecan pollen. J. Amer. Soc. Hort. Sci.114:599-605.
29. Zhang, Y., R. Li, Y.Y. Zhang and R.T. Li. 1999. Studies on the local pear resources of Hunan province : I. SEM observation of pollen morphology of Baojin local pear. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Normalis Hunanensis 22: 91-94.
30. Zhou, L., Z. Wei, Z. Wu, L. Zhou, Z. Wei and Z. Wu. 2000. Pollen morphology of Maloideae (Rosaceae) in China. Acta Botanica Yunnanica 22: 47-52.