

کشت دانه های گرده تعدادی از پروانه واران (Papilioideae) و اثر دما بر رویش و رشد آنها

دکتر احمد مجد - فرخنده رضا نژاد

گروه ریاست شناسی - دانشکده علوم - دانشگاه تربیت معلم تهران

حکیمہ

دانه های گرده سویا *Glycine max*، یونجه *Medicago sativa* و نخود *Cicer arietinum* در محیطهای مختلف کشت مختل甫 کشت شد و در «ماهای مختلف از صفر تا ۴۰ درجه با گامهای ۵ درجه فوار گرفت» در شماری از آزمونها پس از اثر تنش سرما یا گرمای بر گرده ها، نمونه های کشت شده به دمای مناسب بردند. تابع آزمونها نشان داد که محیط اصلاح شده ۱۹۶۷-۱۵ سرای کشت گرده های این گیاهان مناسب است. در صد رویش گرده های هر سه گونه گیاه مورده تحریره تا رسیدن دما به 20°C بسیار نایخیز است از 25°C تا 30°C رویش گرده ها کم است آستانه رویش قعال گرده این گیاهان حدود 15°C است و بیشترین رویش گرده ها در دمای 20°C تا 25°C می باشد. پس از آن تا رسیدن دما به 30°C تغییر قابل توجه و معنی داری در میزان رویش گرده ها دیده نمی شود از 30°C تا 35°C میزان رویش گرده ها کاهش می باید به تحدی که در 30°C و دمای بیش از آن رویش خوب صورت نمی گیرد مقاومت گرده های یونجه در برابر افزایش دما به طور نسبی از گرده های نخود و سویا بیش است.

پیشتر تحت تأثیر تغییرات دما قرار می‌گیرد. تا رسیدن دما به 5°C

اختصاص داده شده است و با برایین بررسیهای علمی از جمله اثر عوامل محیطی بر تکوین، تکامل و رویش گرده ها، رشد لوله های گرده، لفاح و تشکیل میوه و دانه در آنها می تواند علاوه بر دستاوردهای علمی جدید، دارای نتایج کاربردی - اقتصادی باشد. در این پژوهش نیز مناسب با چنین اهدافی بررسی اثر محیطهای مختلف کشت و تیز دماهای مختلف بر رویش لوله های گرده در سه سرده از پروانه واران مورد توجه بوده است.

مواد و روشها :

دانه های گرده ای که بین ساعت ۸ تا ۱۰ صبح از گلهای سویا، تخود و یونجه بدست آمده بود بر روی محیطهای کشت (Heslop Harrison, 1992)، (Brewbaker and Kwack, 1963)، (Rebeca McGee, 1992)، (Pfahlner, 1980)، در بشتاب پتری های با اندازه متوسط (۶۰ میلیمتر) کشت شد. نمونه ها بلا فاصله پس از کشت در دماهای مختلف از صفر تا 20°C با گامهای ۵ درجه قرار داده شد. پس از گذشت نیم يك، دو و سه ساعت از کشت، نمونه ها با اسید استیک ۲۵ درصد تثیت شد و در هر بشتاب پتری درصد رویش گرده ها و میزان رشد لوله های گرده، موره بررسی قرار گرفت. برای تعیین درصد رویش، در هر بشتاب پتری ۲۰ دانه گرده در ۴ تا ۵ میدان دید. مورد مشاهده میکروسکوپی قرار گرفت. به منظور سنجش میزان رشد لوله های گرده نیز طول ۲۰ لوله گرده با استفاده از اکولر دارای گراتیکول در هر بشتاب پتری اندازه گیری شد. هر تجربه چهار بار تکرار گردید و نتایج با استفاده از آنالیز واریانس دو عاملی با تکرار و آزمون داتکن (Duncan's multiple range test) مورد تجزیه آماری قرار گرفت. پس از مقایسه نتایج و تعیین دمای بهینه برای رویش گرده ها و رشد لوله های گرده هر گونه از گیاهان موره پژوهش، برخی نمونه های کشت شده را پس از تنش سرمایی (صفر تا 5°C) و تشن گرمایی (۲۵ تا 40°C) به دمای بهینه منتقل کردیم و میزان رویش لوله های گرده را بررسی کردیم با نمونه های شاهد که تمام مدت در دمای بهینه بودند. مقایسه کردیم.

اشر، گونه های مختلف تک لپه ایها و دو لپه ایها، ذرت، نرگس و زنگنه گل ابداع یا معرفی کرده اند. محققین متعددی از این محیط کشت برای گونه های دیگری از تک لپه ایها، دو لپه ایها و گل‌انگان استفاده کرده اند. یکی از اهداف این پژوهش نیز مقایسه میزان نیز و رشد لوله های گرده و سلامت آنها در محیط های کشت مختلف و شناسایی محیط مناسب تر بوده است.

تشکیل میوه و دانه به دمای مناسب نیاز دارد بخشی از این نیاز بوط به اثر دما بر رویش گرده ها و رشد لوله های گرده است که برای اینین یاخته های نر (آنتروزونیدها) به کمیه رویانی نهادانگان یا گلن بازدیگان و انجام لفاح لازم است. در مواردی که توانایی پژوهش گرده در شرایط آزمایشگاهی با لفاح در شرایط مزرعه همانگی نباشد. پژوهشها آزمایشگاهی به عنوان شاخصی برای توان لفاح بوره توجه است (Loreti et al., 1981). ۱۱. پژوهشگرانی از (Farlow, 1979), ۱۴ (Pearson, 1932), ۵ (KUO, 1980), ۱۰. گزارش کرده اند که گستره های دمایی و دمایه در گونه ها و ارقام مختلف گیاهی متفاوت است. رویش گرده ها رشد لوله های گرده در شرایط آزمایشگاهی به ویژه در گونه های خسی موره پژوهش عددی از محققان از جمله ۱۹ (Therios et al., 1984), ۱۳ (Mellenthin, 1977), ۶ (Griggs, 1975), ۱۲ (Luza et al., 1984), ۱۸ (Sedgley, 1977), ۹ (Jefferies, 1984), ۱ (Bajaj, 1991), ۲۳ (Yates, 1984) می دهد که سرما و نیز دمای بالاتر از 20°C با کاهش با توقف پیش و رشد لوله های گرده، موجب کاهش میزان محصول می شود. چنین مشخص شده است که رشد لوله گرده نسبت به رویش گرده در برابر سرما و گرما حساسیت بیشتری دارد و به طور متوسط نیاز مالی بالاتری دارد.

گیاهان تیره پروانه آسا به ویژه سرده هایی مثل سویا، تخود و بقعه از گیاهان استراتژیک و دارای اهمیت اقتصادی و تقدیمه ای زیاد هزاران هکتار از اراضی قابل کشت کشور به کشت این گیاهان

قابل توجهی میزان رویش گرده ها را کاهش می دهد و به حدود درصد می رساند (شکل ۱، ۲، ۳، تصویر ۱۱ و جدول ۱).

در هر سه گونه، میزان رشد لوله های گرده در نیم ساعت ا

کشت نسبت به نیم ساعت بعد، به دلیل زمان لازم برای آب گیری فعال شدن گرده ها، کمتر می باشد و پس از آن با افزایش زمان، افزایش می باید (نمودار ۴، ۵ و ۶).

رشد لوله های گرده تیز همانند رویش آنها اما باشد تیز تحت تأثیر تغییرات دما قرار می گیرد. در دمای پائین (تا حدود ۰°C)

رشد بسیار مختصر است. (شکل ۱ و ۲، تصویر ۸ و جدول ۱) با افزایش دما، سرعت رشد لوله های گرده نیز افزایش می باشد تا حدود ۲۰°C به بیشترین مقدار خود می رسد (شکل ۱ و ۲، تصاویر B تا F و جدول ۲)، افزایش دما به بیش از ۲۰°C میزان رشد لوله های گرده را کاهش می دهد و در ۲۰°C یا کمی بالاتر از آن را متوقف می شود (شکل ۱ و ۲، تصویر ۱۱ و جدول ۲).

رشد لوله های گرده در بونجه از دو گونه دیگر سریعتر است و حدود ۰/۲ تا ۵/۰ میلیمتر در ساعت می رسد در حالی که در نخود سویا رشد متوسط لوله های گرده حدود ۰/۳ تا ۰/۴ میلیمتر در ساعت می باشد. (نمودار ستونی ۵، ۶ و ۷).

تشهای سرمایی (صفر تا ۵°C) و سپس انتقال گرده های در رشد به دمای مناسب، چنانچه زمان تشها از حدود نیم ساعت بزرگتر، تغییر محسوسی در رشد لوله های گرده ایجاد نمی کند. تک تشهای گرمایی (۲۰°C) حتی برای مدت نیم ساعت نیز کاهش شدید رشد لوله های گرده می شود.

بحث و تفسیر :

نتایج حاصل از کشت دانه های گرده سه گونه از پروانه از نشان می دهد که به طور کلی میزان رویش گرده های این گیاهان سرما یا دمای کم (تا حدود ۵°C) ناچیز است و با افزایش دمای رسانیدن به حدود ۲۰°C، افزایش می باید. رویش فعال گرده ها از زمان ۱۵°C شروع می شود که در هر گونه با گونه دیگر کمی تفاوت دارد به ویژه در نخود آستانه رویش فعال به حدود ۲۰°C می رسد.

عکسبرداری از نمونه ها با میکروسکوپ نوری زایس مجذب به دوربین انجام شد.

نتایج :

نتایج حاصل از میزان رویش یا درصد رویش گرده ها نشان می دهد که در هر سه سرده سویا، نخود و بونجه، رویش دانه های گرده در فاصله زمانی نیم تا یک ساعت پس از کشت زیاد است و در شرایط مناسب رویش بیش از ۹۰ درصد دانه های گرده در این مدت می رویند (نمودار ۱، ۲ و ۳).

گرده های بدست آمده از غنجه های نیمه رس (مزیدک به شکفتن گل) توان رویش بیشتری دارند در حالی که گرده های من و انتخاب شده از گلهای شکفته به نسبت کمتری می رویند و عده ای از آنها لوله های گرده دارای انشعاب و یا بیش از یک لوله گرده به وجود می آورند. کشت گرده ها در شرایط دمایی مشابه، اما بر روی محیطهای کشت مختلف نشان می دهد که برای رویش و رشد لوله های گرده هر سه گونه مورد پژوهش، محیط اصلاح شده، Pthalal با ترکیب: ساکارز ۱۰ گرم، نیترات کلسیم ۰/۰۳ گرم، اسید بیک ۰/۰۱ گرم، آگار ۵/۰ گرم و آب مقدار ۱۰۰ سانتیمتر مکعب از سایر محیطهای به کار گرفته شده مناسب است.

نتایج حاصل از تیمارهای دمایی نشان می دهد که میزان رویش گرده های در سه گونه مورد پژوهش در دمای تا ۵°C بسیار کم و پائین تر از ۱۰ درصد گرده های کشت شده می باشد (شکل ۱، ۲، ۳ - تصویر A و جدول ۱). با افزایش دما تا ۱۵°C میزان رویش گرده ها بسرعت افزایش می باید و در بونجه و سویا به ۸۵ درصد گرده های کشت شده می رسد (شکل ۱ و ۲، تصویرهای B و C). در نخود چین میزان رویشی در دمایی بیشتر یعنی حدود ۲۰°C حاصل می شود (شکل ۲، تصویر D و جدول ۱). از حدود ۱۵ تا ۲۵°C میزان رویش گرده ها در حد بینه است و به حدود ۹۰ تا ۹۲ درصد می رسد (شکل ۱، ۲، تصاویر D تا G و جدول ۱)، البته تغییرات میزان رویش در ۱۵ تا ۲۵°C خیلی زیاد تیست (از ۸۵ به حدود ۹۰ درصد) و از نظر آماری چندان معنی دار نمی باشد. افزایش دما از ۳۵ به ۴۰°C به صورت

فصل گل دهی مورد توجه قرار گیرد و از کشت نمونه های حساس به گرما در نواحی گرم، اجتناب شود.

بررسی چگونگی رشد لوله های گرده نشان داد که در هر سه گونه برای رشد سریع لوله های گرده و سالم ماندن آنها دمای بهینه حدود ۲۵ تا 20°C است و با افزایش دمای حدود ۳۵ تا 20°C رشد لوله های گرده کاهش می باید یا حتی متوقف می گردد. این نتایج با یافته های (Vanwert et al., 1992, Sangduen et al., 1983) مطابقت دارند.

که دمای 20°C را به عنوان دمای بهینه برای رشد لوله های گرده گیاهان مورد پژوهش خود منظور داشته اند سازگاری دارد.

مقایسه رویش گرده ها و رشد لوله های گرده در دماهای مختلف نشان می دهد که رشد لوله گرده نیاز دمایی بالاتری نسبت به رویش دانه گرده دارد و لوله های گرده در برابر تنشهای سرمهایی و گرمایی آسیب پذیرترند. از این دیدگاه نیز دمای متوسط مناطق موره کاشت به ویژه در فصل گل دهی بایستی مورد توجه باشد.

از یک سو با یافته های (Vasil, 1985) ۲۱. که نشان داده (Gudin, 1991) ۱۳ (Mellenthinet et al., 1984) ۲۲. توان رویش گرده ها را کاهش می دهد و از بکر با نتایج پژوهش های (Weinbaum et al., 1984) ۲۳ که می دهد نیاز دمایی در بین گونه های یک جنس برای رویش گرده اوت است. سازگاری دارد.

وشهای ما آثار زیان پار دمای حدود 20°C و بیش از آن بر گرده های گیاهان مورده تجربه را به خوبی نشان داد. این آثار که تغییر در ساختمان فضایی و ویژگی های زیاد مربوط به تغییر در دمای 20°C می شود. نتایج گزارش شده (Bajaj et al., 1989) را تائید می کند ولی با کارهای (Yates, 1989) می بیند. موافق ندارد. در گرده های موره پژوهش می دار نیاز 20°C حتی برای مدت نیم ساعت موجب کاهش معنی دار نیاز گرده های می شود. در کشت این گیاهان بایستی دمای مطلقه در

جدول ۱ - درصد رویش دانه های گرده در دماهای مختلف

نام گونه	دما $^{\circ}\text{C}$	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰
Medicago sativa		۶۵/۲۵	۹۲/۲۵	۹۲/۵	۹۲/۲۵	۹۷/۵	۸۶/۲۵	۸۴/۵۲	۹۲۵	
Cicer arietinum		۵۵/۲۵	۸۵/۲۵	۹۲	۹۲/۲۵	۹۱/۵	۸۲/۲۵	۷۶/۵	۹/۲۵	
Glycine max		۵۶	۸۳	۹۱/۲۵	۹۰/۲۵	۹۱	۸۹	۸۲/۵۲	۶/۷۵	

جدول ۲ - میزان رشد لوله گرده در دماهای مختلف (میلیمتر بر ساعت)

نام گونه	دما $^{\circ}\text{C}$	۰	۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	۳۵	۴۰
Medicago sativa		۰/۱۳۱	۰/۶۶۲	۰/۹۹۵	۰/۲۲۳	۰/۲۵۵	۰/۱۹۴	۰/۰۹۵	۰/۰۲۸	
Cicer arietinum		۰/۰۷۸	۰/۵۹	۰/۸۵۴	۰/۶۶۸	۰/۳۱۵	۰/۱۲۱	۰/۰۸	۰/۰۲۸	
Glycine max		۰/۱۰۳	۰/۲۰۲	۰/۹۳۶	۰/۸۲۶	۰/۲۰۲	۰/۲۲۲	۰/۱۴	۰/۰۲۲	

Vol. 5, No. 1, 2
Spring and Summer 1993



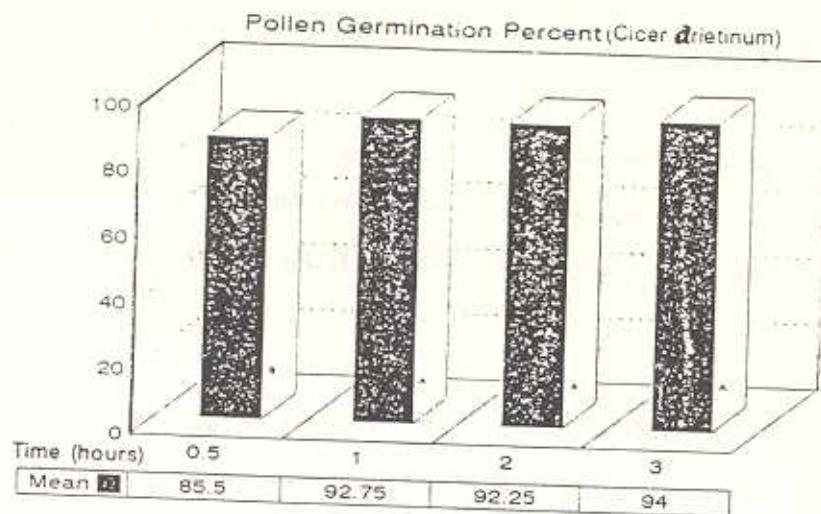
Journal

University for

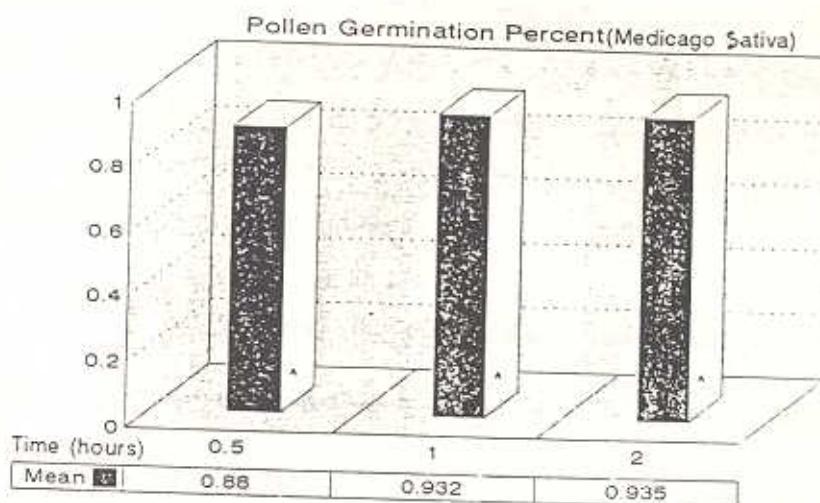
نشریه علوم

دانشگاه ریاستجمهوری

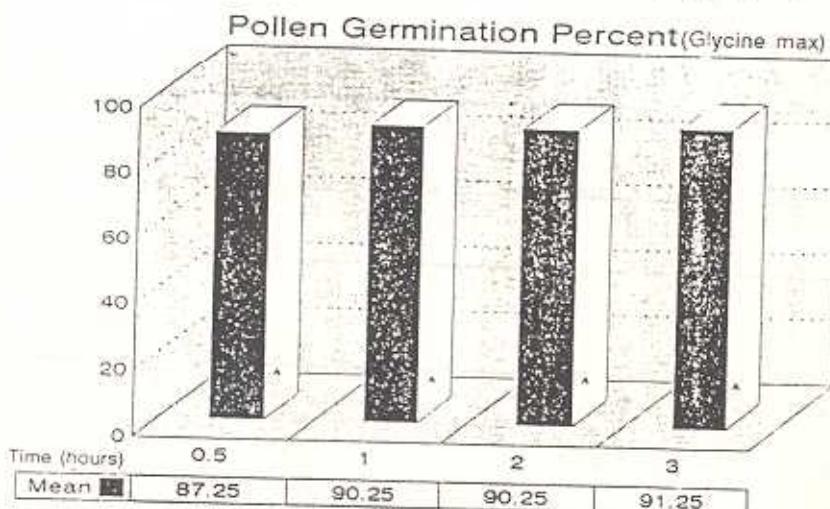
(علمی- پژوهشی)



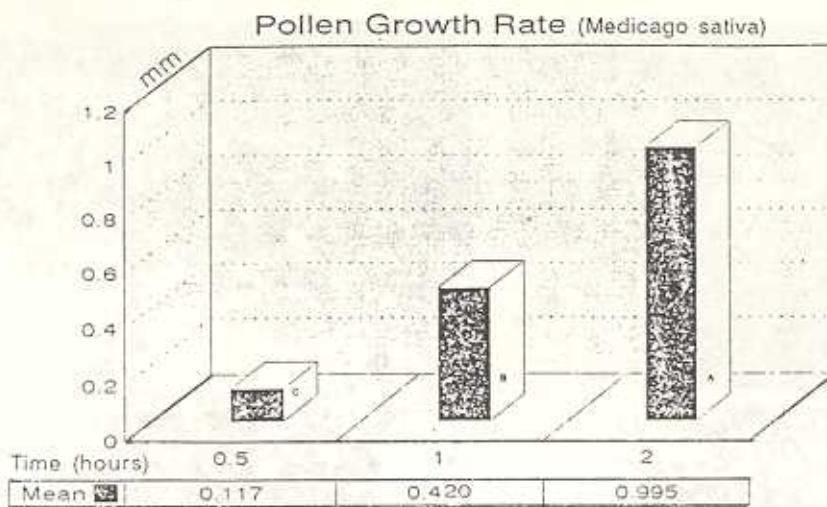
نمودار ۱: درصد روش گرده یونجه به ترتیب: نیم، یک و دو ساعت پس از کشت در دمای 30°C



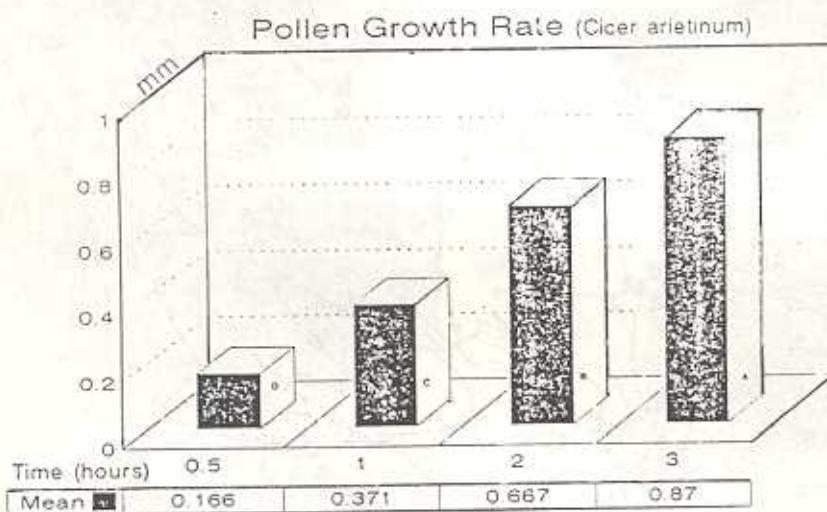
نمودار ۲: درصد روش گرده نخود به ترتیب: نیم، یک، دو و سه ساعت پس از کشت در دمای 30°C



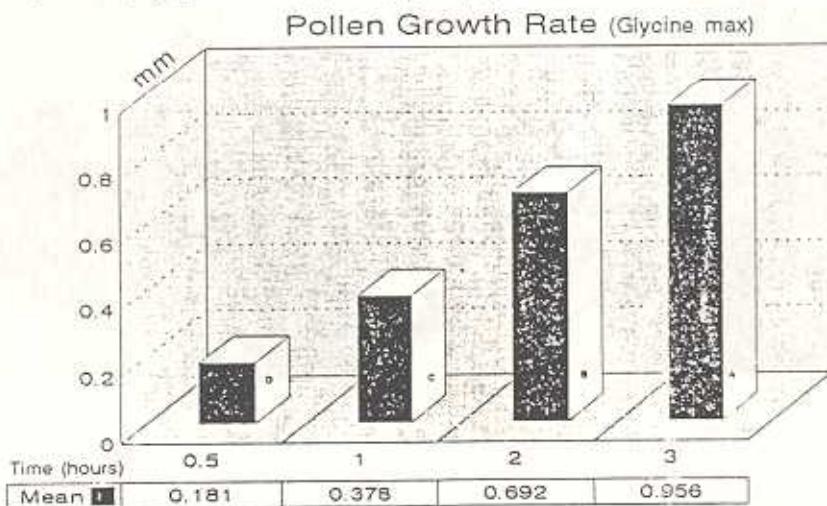
نمودار ۳: درصد روش گرده ۲ ساعت پس از کشت در دمای 30°C



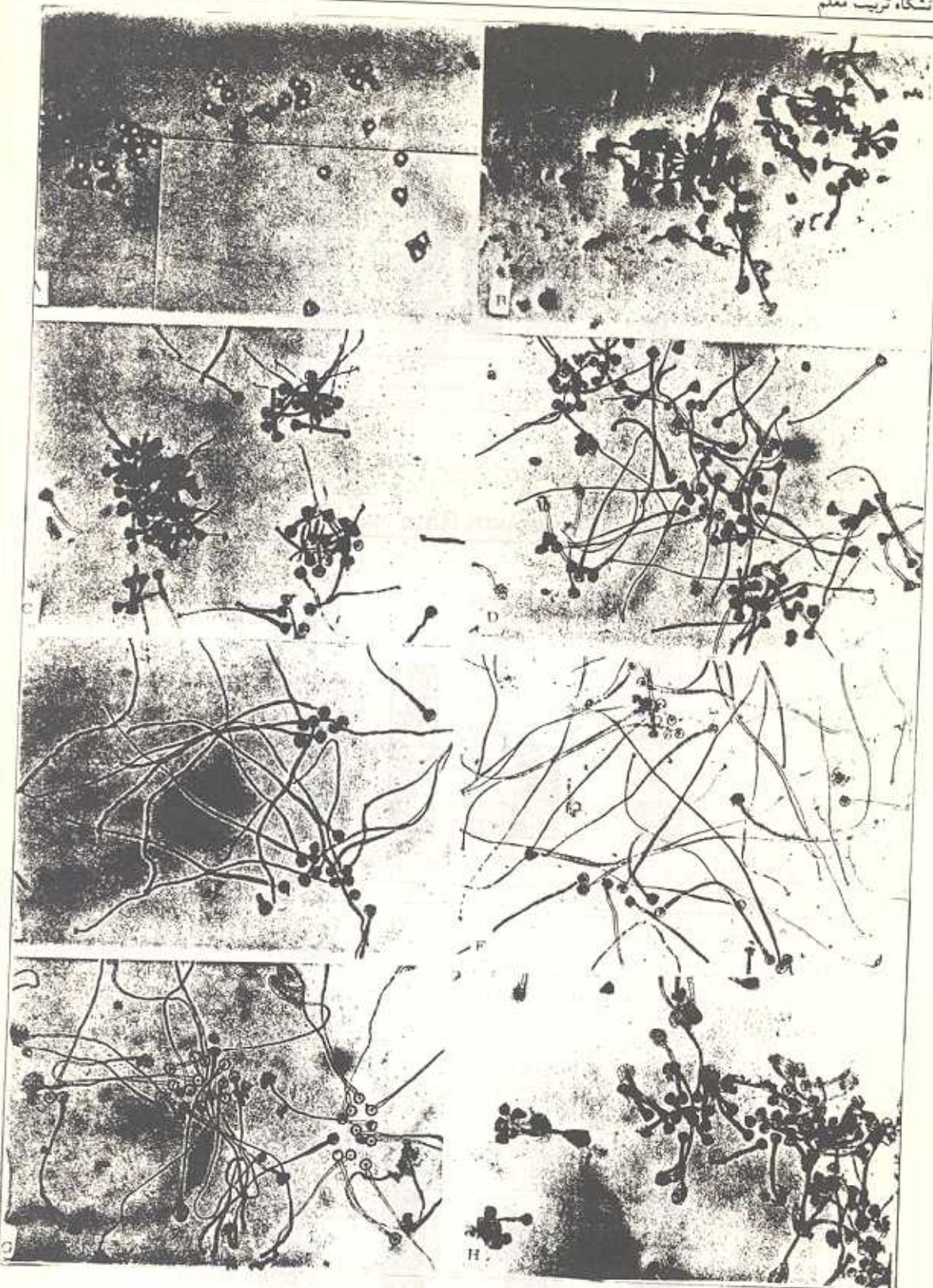
نمودار ۴: میزان رشد لوله گرده یونجه به ترتیب: نیم، یک و دو ساعت پس از کشت در دمای 30°C



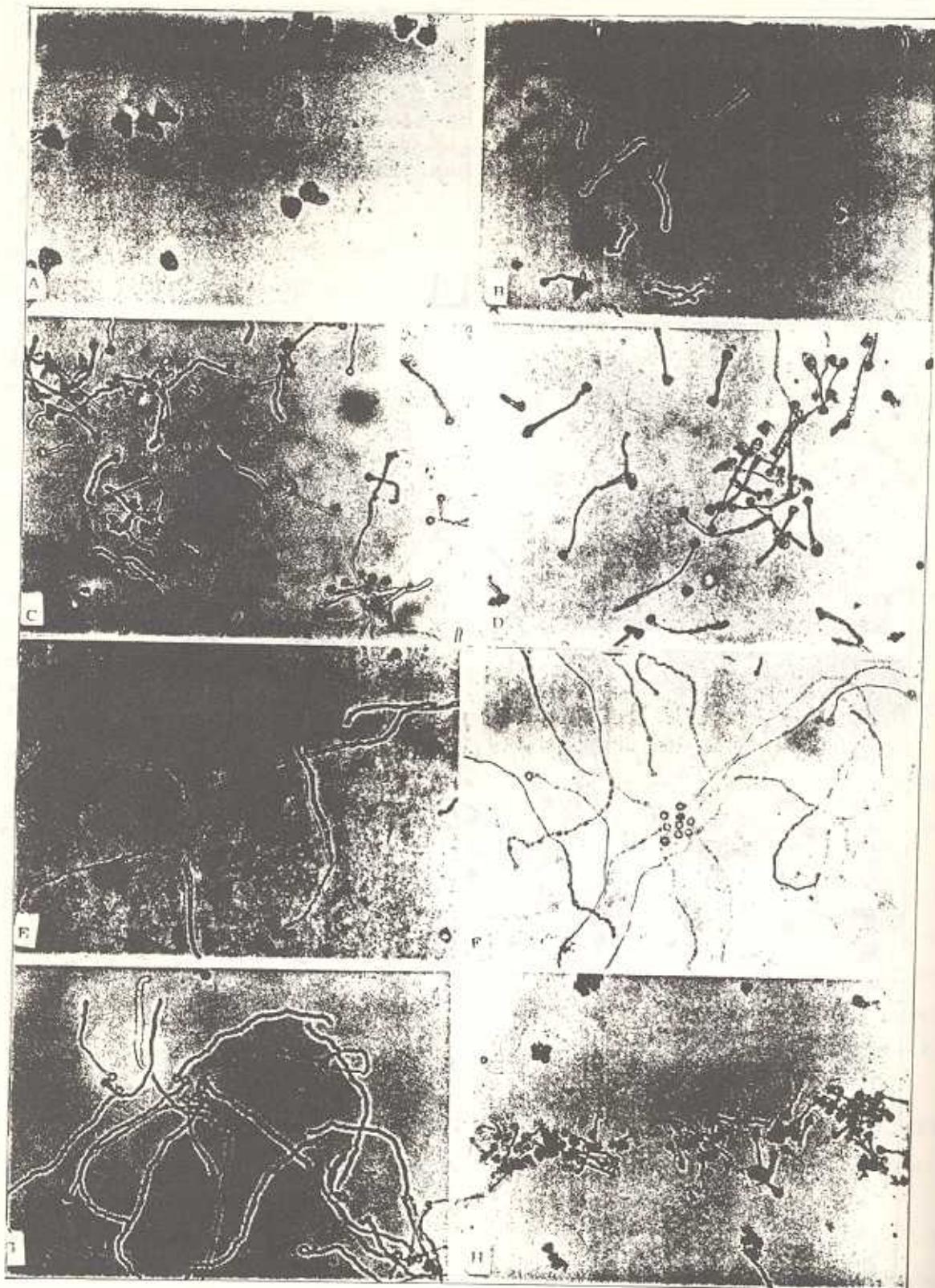
نمودار ۵: میزان رشد لوله گرده بخود به ترتیب: نیم، یک، دو و سه ساعت پس از کشت در دمای 30°C



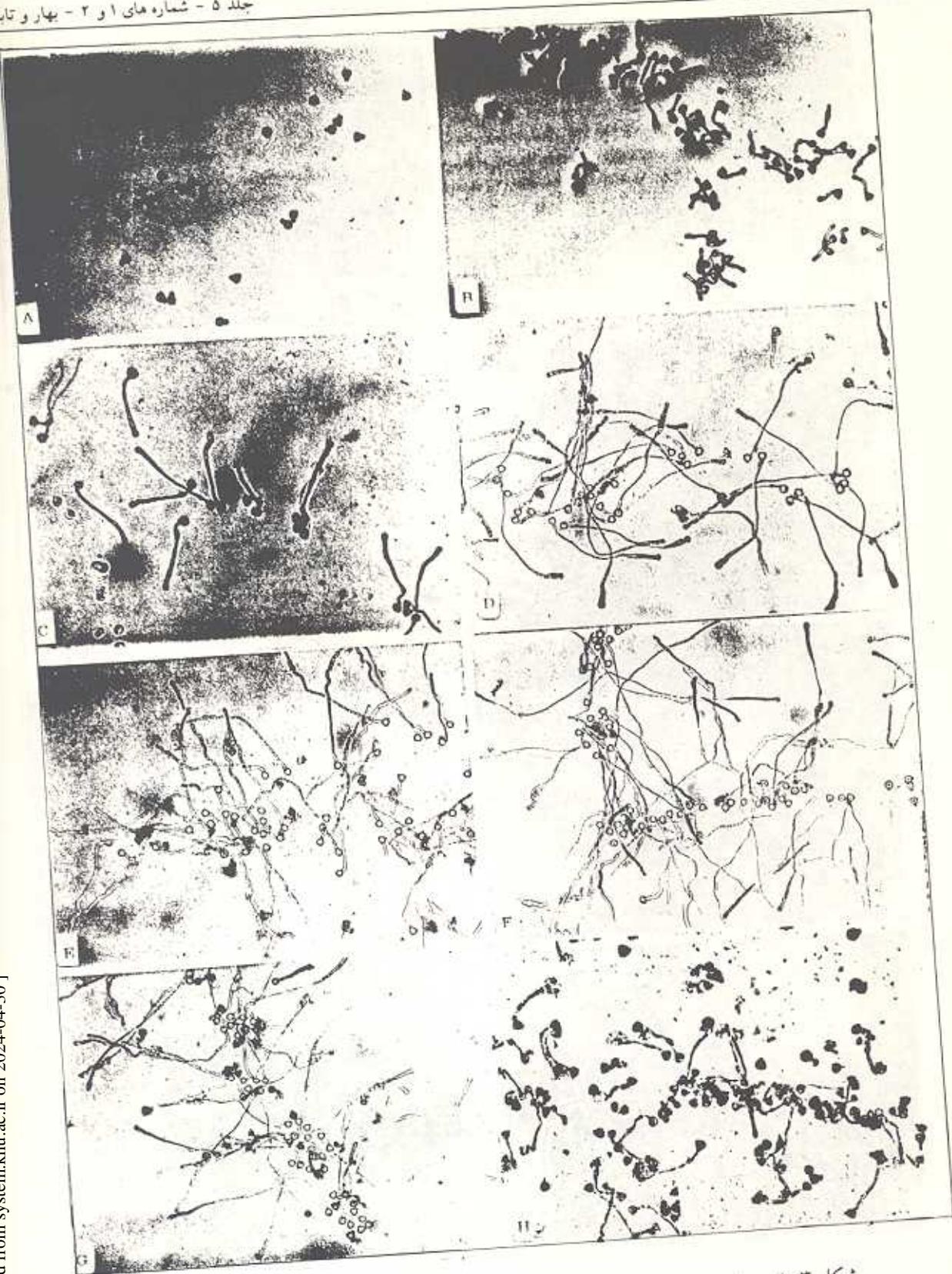
نمودار ۶: میزان رشد لوله گرده سویا به ترتیب: نیم، یک و دو ساعت پس از کشت در دمای 30°C



شکل ۱: اثر دما بر روش و رشد لوله گردہ یونجه در محیط Pfahler ۲ ساعت پس از کشت (۲۴۰×): A-H: روش و رشد لوله گردہ به ترتیب در دمای ۵ تا 40°C



شکل ۲: اثر حرارت بر روش و رشد لوله گرده نخود در محیط Pfahler ۳ ساعت پس از آغاز کشت (۲۴۰ \times) : A-H : روش و رشد لوله گرده به ترتیب در دمای ۵ تا ۴۰ $^{\circ}$ C



شکل ۳: اثر حرارت بر روش و رشد لوله گرده سویا در محیط Pfahler ۳ ساعت پس از آغاز کشت (۲۴۰ \times) - A-H: روش و رشد لوله گرده به ترتیب در دمای ۵ تا ۴۰°C

References :

1. Bajaj, M; cresti, M. and shivana. K.R. 1991. Effects of high temperature and humidity stress on tobacco pollen and their progeny. in pollen and Ovule: Basic and Applied Aspects. ed. D.L. Mulcahy. Springer - Verlag. Berlin (in press).
2. Brewbaker, J.L. & Kwack, B.H. 1963. The essential role of Ca^{+2} in pollen germination and pollen tube growth. Am. J. Bot. 50(9), 859 - 865.
3. Brink, R.A., 1924 a. The physiology of pollen the requirements for growth. Am.J. Bot. 112: 275 - 277.
4. Brink, R.A., 1924 b. the physiology of pollen. Further consideration regarding the requirement for growth. Am. J. Bot. 11 : 283 - 294.
5. Farlow, P.J., D.E. Dyth, and N.S. Kruger. 1979. Effect of temperature on seed set and invitro pollen germination in French bean (*Phaseolus vulgaris*). Austral. J. Exp. Agric. Anim. Husb. 19: 725 - 731.
6. Griggs, W.H., and B.T. Iwakiri. 1975. Pollen tube growth in almond flowers. California Agric. 29: 4-7
7. Gudin, L. Arene, C. Pellegrino. 1991 - Influence of temperature and hygrometry on rose pollen germination. Advances in Horticultural science. 5: 96 - 98.
8. Heslop - Harrison, J. and Heslop - Harrison. 1992. germination of monocolporate Angiosperm pollen. Annual of Bot. 63: 395 - 403.
9. Jefferies, C.J., P.Boronim, K.G. Scott, and A.R. Belcher. 1982. Experimental systems and mathematical model for studying temperature effects on pollen tube growth and fertilization in palm plant cell Environ. 5: 231 - 236.
10. Kuo, C.G., J. S. Peng, and J.S. Tsay. 1981. Effect of high temperature on pollen germination, pollen tube growth and seed yield of chinese cabbage. Hortscie 16: 67 - 68.
11. Loret, F., Viti, R. and Xiloyannisic. 1981. Prov impollinazione incrociate e fertilità del polline alcune cultivar di mandorlo. Convegno Nazionali miglioramento della coltura del mendorlo e Nocciolo. Aspect geneticci etecnici. Messina e siracusa 1979, 379 - 390.
12. Luza, J.G., et al. 1987. Staminate bloom date and temperature responses of pollen germination and pollen tube growth in two walnut (*Juglans*) species. Am. J. of Bot. 74: 1898 - 1903.
13. Mellenthin, W.M., Wang, C.Y. and Wang, S.Y. 1980. Influence of temperature on pollen tube growth and initial fruit development in d. Angou. Pea. Hortscience. 7: 557 - 9.
14. Pearson, OH. H. 1932. Breeding plant of the cabbage group. Calif. Agric. Exper. Sta. Bull. 532.
15. Pfahler, P.L. 1967. invitro germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays*, L) Pollen. I, calcium and boron effects. Can. J. Bot. 55: 839 - 845.
16. Rebeca J. McGee and James R. Baggett. 1992. Unequal growth rate of pollen tubes from normal and stringless Pea Germotypes. Hortscience. 27(7): 833 - 840.
17. Sangduen, N., E.L. Sorensen & G.H. Liang. 1982. perennial x annual medicago corsa. Can. J. Genet. cytol. 24: 361 - 365.
18. Sedgley, M. 1977. The effect of temperature on floral behaviour pollen tube growth and fruit set in the avocado. J. Hort. Sci. 52: 135 - 141.
19. Therios I.N., Tsirakoglou V.M., Dimassi - Therios K.N., 1985 - Physiological aspects of pistachio pollen germination. Riv. ortoflorofru t.l., 96: 161 - 170.
20. Vanwert sally L. & James A. Saunders. 1992. Reduction of nuclease activity released from

germination pollen under condition used for pollen
transformation. Plant Science 84: 11 - 16.

Iakakis, M. and I.C. Porilngis, 1985. Effect of
temperature of pollen germination, pollen tube growth,
active pollination period and fruit set of pear
science. 20: 733 - 735.

22. Weinbaum, S.4., D.E. Parfitt, and V.S. Polito. 1984 - Defferentiation cold sensivity of pollen grains germination in two prunus species. Euphytica. 33: 419 - 426.
23. Yates, I.E., Sporks D., 1989. Hydration and temperature influence invitro germination of pecan pollen. J. Am. Soc. Hort. Sci. 114: 599 - 605.

Culturing pollen grains of some members of leguminosae and determining the temperature effects on their germination and pollen tube growth.

Majd - Ahmad & Rezanejad - Farkhondeh

Department of Biology, Tarbeyat Moallem University, Tehran, Iran.

Abstract :

Pollens of *Glycine max*, *Medicago sativa* and *Cicer arietinum* were cultured in different media at temperatures from 0°C to 40°C (Step = 5°C). In a number of tests after thermal stress effect (heat or cold), the cultured samples were brought to optimal temperatures. The results showed that: The modified of pfahler medium is suitable for these pollens culture. The percentage of pollens germination of all three specis was poor below 5°C , but fair from 5°C to 10°C . The active germination treshold temperature was $\geq 15^{\circ}\text{C}$ and the most amount of germination is seen from 15°C to 20°C , after which there is no remarkable changes in germination decrease as there is no germination in temperatures $\geq 40^{\circ}\text{C}$. The temperature resistance of *Medicago sativa* pollens is proportionately more than the other two.

The growth of pollen tubes is similar to pollen grain growth and even much more affected by thermal changes. Below 5°C their growth is poor. From 15°C the active and rapid growth of pollen tubes begins and continues till 30°C . The temperature increase from 35°C to 40°C causes a decrease in the pollen tubes growth. The growth of pollen tubes is much more sensetive to thermal tensions (heat or cold) than pollen grains growth.