به‌زراعی کشاورزی

دوره ۱۶ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۳

صفحه‌های ۳۳۷-۳۲۱

بررسی اثر دمای نگهداری و غلظت‌های مختلف پوترسین بر جوانه‌زنی دانه و رشد لولهٔ گردهٔ دو ژنوتیپ ایرانی گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.)

سیده سمانه حسینی[۱]، نوراله احمدی[۲]* و عباس یداللهی[۲]

۱. کارشناس ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۳/۱۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۴/۲۲

چکیده

این پژوهش به‌منظور تعیین بهترین مرحلهٔ نمو گل جهت جمع‌آوری دانهٔ گرده و محیط جوانه‌زنی دانهٔ گرده و همچنین ارزیابی اثر دمای نگهداری و غلظت‌های مختلف پوترسین بر زنده‌مانی دانهٔ گرده و جوانه‌زنی دو ژنوتیپ گل محمدی ('آذران' و 'کاشان') انجام گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی با شانزده تیمار و چهار تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل چهار سطح دمای نگهداری دانهٔ گرده (۲۵، ۴، ۲۰- و ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد) و چهار سطح پوترسین (غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۲/۵ میلی‌مولار) بود. براساس نتایج، بهترین مرحلهٔ نمو گل برای جمع‌آوری دانهٔ گرده، مرحلهٔ غنچهٔ نیمه‌باز، و محیط جوانه زنی مناسب نیز حاوی ۳۰۰ ppm نیترات کلسیم، ۲۰۰ ppm سولفات منیزیم، ۱۰۰ ppm نیترات پتاسیم، ۱۰۰ ppm اسید بوریک، ۱۵ درصد ساکارز و ۱/۲ درصد آگار بود. در ژنوتیپ 'آذران' بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی به‌ترتیب در محیط حاوی ۰/۲۵ و ۲/۵ میلی‌مولار پوترسین به‌دست آمد. همچنین بررسی روند جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'کاشان' در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد که با گذشت زمان، درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده کاهش می‌یابد که این روند کاهش درصد جوانه‌زنی تحت تأثیر غلظت کم پوترسین و با نگهداری در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد کندتر شد. نتایج این تحقیق نشان داد که نگهداری دانهٔ گرده در دمای کم (۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد) و کشت آن در محیط حاوی کمترین مقدار پوترسین (۰/۲۵ میلی‌مولار) سبب دستیابی به بیشترین درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده می‌شود.

کلیدواژه‌ها: پوترسین، دانهٔ گرده، محیط جوانه‌زنی، مرحلهٔ نمو گل.

*نویسنده مسئول Email: ahmadin@modares.ac.ir

۱. مقدمه

دانۀ گرده، به‌عنوان سلول منفرد، مدل و سیستمی ساده برای اجرای تحقیقات مرتبط با حفاظت و ذخیرۀ بخشی از تنوع ژنتیکی است. زمانی که نگهداری تنوع ژنتیکی با بذر مشکل است، دانۀ گرده می‌تواند به‌عنوان منبع مهم تنوع ژنتیکی در حفاظت از تنوع گیاهی به‌شمار رود. این امر تا حد زیادی در گونه های با باروری کم، گونه های دارای بذرهای درشت یا بذرهایی که نگهداری آنها سرمایه‌گذاری زیادی می طلبد، بیشتر حائز اهمیت است. همچنین دانه های گرده را می‌توان اغلب بدون خطر انتقال بیماری‌ها، به‌صورت بین‌المللی حمل کرد [۱۲].

حد موفقیت نگهداری دانۀ گرده با زنده‌مانی طولانی دانۀ گردۀ ذخیره‌شده ارزیابی می شود. مقدار آب، سرعت خنک کردن و دمای انبار کردن، همگی بر طول عمر دانۀ گردۀ ذخیره‌شده اثر می‌گذارد [۵]. بهترین حالت برای نگهداری دانۀ گردۀ رز، وضعیت خشک و دمای کم گزارش شده است [۳۹]. عمر انباری دانه‌های گردۀ جمع‌آوری‌شده از بساک‌های نابالغ، پیر یا قرارگرفته در معرض هوای نامساعد کوتاه است [۳۷]. کاهش شاخص‌های دما، رطوبت و فشار اکسیژن سبب افزایش زنده ماندن دانه های گرده می شود. در مورد مقدار رطوبت باید با توجه به نوع دانۀ گرده، حد بحرانی آن درنظر گرفته شود، زیرا کاهش بیش از حد رطوبت، سبب کاهش زنده‌مانی می‌شود. به‌عبارت دیگر، خشک کردن بیش از حد، به‌دلیل تغییرات ساختمانی شدید در غشا و نفوذپذیری پلاسما، سبب مرگ دانۀ گرده می‌شود [۲، ۱۶].

جوانه‌زنی دانۀ گرده و رشد لولۀ گرده به‌طور وسیعی به فاکتورهایی از قبیل ترکیب محیط کشت جوانه‌زنی، ژنوتیپ، دما، رطوبت، وضعیت تغذیه ای گیاه مادر، کیفیت و کمیت اندوختۀ غذایی دانۀ گرده، مرحلۀ نموی دانۀ گردۀ جمع‌آوری‌شده و وضعیت نگهداری بستگی دارد [۲، ۱۸]. برای تخمین پتانسیل گرده‌افشانی در برنامه‌های اصلاحی، کمیت و قابلیت زنده‌مانی دانه های گردۀ ارقام و ژنوتیپ‌ها و نیز قابلیت جوانه زنی دانۀ گرده باید مدنظر قرار گیرد [۹، ۳۰]. محیط مورد استفاده برای جوانه زنی دانۀ گرده بسته به گونۀ گیاهی متفاوت است [۱۷]، به‌طوری‌که دانۀ گردۀ برخی از گونه های گیاهی به محیط کامل‌تری نیاز دارد [۶]. تحقیق دربارۀ دو رقم رز نشان داد که با کاهش دما، مدت زمان ماندگاری دانه های گرده افزایش یافت. قوۀ نامیۀ دانۀ گرده در وضعیت طبیعی، به‌سرعت کاهش می‌یابد و در بیشتر ارقام، دانۀ گرده بعد از یک ماه از بین می‌رود [۱۸]. درحالی‌که قوۀ نامیه در دمای ۴- تا ۶- درجۀ سانتی‌گراد با سرعت کمتری کاهش می‌یابد [۳۹]. دانه های گردۀ تعداد زیادی از گونه ها را می‌توان در دماهای بین ۴ و ۲۰- درجۀ سانتی گراد به‌مدت کوتاهی نگهداری کرد. زنده‌مانی طولانی‌مدت، با نگهداری دانۀ گرده در ۸۰- درجۀ سانتی‌گراد یا نیتروژن مایع یا بخار نیتروژن مایع (۱۹۶- درجۀ سانتی‌گراد) نیز ممکن است [۱۱].

پلی آمین ها هیدروکربن‌های آلیفاتیک با وزن مولکولی کم هستند که در تمام سلول‌ها یافت می‌شوند [۳۳]. گزارش‌های مختلف، نقش پلی آمین ها را در فرایندهای بلوغ و جوانه‌زنی، در انواع مختلف دانۀ گرده نشان داده‌اند [۲۸]. پلی‌آمین‌ها به‌وسیلۀ غشای پلاسمایی و از طریق باند شدن با فسفولیپیدهای غشا و پروتئین‌ها به حالت تعادل می‌رسند و از این طریق از تأخیر در رشد لولۀ گرده جلوگیری می‌کنند [۲۷]. تحقیقات حاکی از آن است که جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای دانۀ گردۀ گیاه پروانش [۲۰] و گل لیلیوم [۲۱] به‌وسیلۀ بازدارنده‌های سنتز پلی‌آمین به‌طور کامل جلوگیری شد. این اثر بازدارندگی با کاربرد پلی‌آمین‌های برون‌زا در محیط جوانه‌زنی دانۀ گرده، برطرف می شود. افزایش بیوسنتز پلی آمین ها و همچنین فعالیت آنزیم‌های آرژنین دکربوکسیلاز و ارنیتین دکربوکسیلاز در

مراحل اولیهٔ جوانه زنی دانهٔ گرده گزارش شده است [۷]. غلظت‌های زیاد پلی‌آمین‌ها اثر منفی بر جوانه‌زنی دانهٔ گرده دارد. در مقابل برخی از غلظت های کم نیز ناکافی به‌نظر می‌رسد [۲۹]. غلظت‌های زیاد پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین به‌طور کامل از جوانه‌زنی دانهٔ گرده در سیب جلوگیری می‌کند. درحالی‌که غلظت‌های اندک پلی‌آمین‌ها اثر کمی بر افزایش جوانه‌زنی دانهٔ گرده نسبت به شاهد دارد [۴۲]. مطالعات دربارهٔ جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ گیاه چریش حاکی از آن بود که افزودن پلی‌آمین‌ها ضروری نیست، با این حال، افزودن آنها به‌ویژه پوترسین به محیط اثر مثبت و معناداری دارد [۲۷]. همچنین غلظت‌های زیاد پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین به طور کامل از جوانه زنی دانهٔ گرده در سیب جلوگیری می‌کند، درحالی‌که غلظت‌های اندک پلی‌آمین‌ها سبب افزایش معنادار جوانه‌زنی دانهٔ گرده نسبت به شاهد می‌شود [۲۹].

گل محمدی یکی از مهم‌ترین گونه های گل رز و بومی ایران است [۴] و به‌عنوان گیاهی زینتی – دارویی، اهمیت ویژه‌ای دارد. با توجه به نیاز و شروع برنامه‌های اصلاحی رز و همچنین به منظور شناخت و ارزیابی دانهٔ گردهٔ گل محمدی به‌عنوان والد گرده‌دهنده، این آزمایش برای تعیین بهترین محیط جوانه‌زنی دانهٔ گرده و بررسی اثر دماهای نگهداری و غلظت های مختلف پوترسین بر کارایی دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' گل محمدی تحت شرایط درون‌شیشه‌ای[1] انجام گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

این تحقیق در قالب سه آزمایش مجزا طی سال‌های ۱۳۹۰–۹۱ در دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران صورت گرفت.

۲.۱. آزمایش اول: تعیین محیط بهینهٔ جوانه‌زنی

به‌منظور تعیین بهترین محیط جوانه زنی، سه ترکیب محیط جوانه‌زنی شامل M_1 [۱۰]، M_2 [۳۸] و M_3 [۲۳] بررسی شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار و سه تکرار برای هر یک از ژنوتیپ‌های بررسی‌شده اجرا شد. ترکیب هر یک از محیط‌های جوانه‌زنی بررسی شده در جدول ۱ آورده شده است. نتایج نشان داد که دانهٔ گردهٔ هر دو ژنوتیپ، در محیط M_3، بیشترین درصد جوانه زنی را داشتند (شکل ۱)، بنابراین در دیگر آزمایش ها در زمینهٔ مطالعهٔ دانهٔ گردهٔ هر دو ژنوتیپ 'کاشان' و 'آذران' گل محمدی، از محیط M_3 استفاده شد.

جدول ۱. ترکیب محیط‌های جوانه‌زنی

ترکیبات شیمیایی(µl/l)	M_1	M_2	M_3
نیترات کلسیم	–	-	۳۰۰
سولفات منیزیم	–	-	۲۰۰
نیترات پتاسیم	–	-	۱۰۰
اسید بوریک	۵۰	۱۰۰	۱۰۰
ساکارز (٪)	۱۵	۱۵	۱۵
آگار (٪)	۱/۲	۱/۲	۱/۲

۲.۲. آزمایش دوم: تعیین بهترین مرحلهٔ گل برای نمونه‌گیری دانهٔ گرده

به‌منظور تعیین بهترین مرحلهٔ گل برای نمونه‌گیری دانهٔ گرده، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار (غنچهٔ بسته، گل نیمه‌باز و باز) با سه تکرار برای هر یک از ژنوتیپ‌های بررسی‌شده، طراحی و اجرا شد. بدین منظور غنچه‌های گل محمدی در مراحل مختلف بسته، نیمه‌باز و باز (در وضعیت کنترل‌شده) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. بساک گل‌ها در هر یک از مراحل یادشده، تحت شرایط کنترل‌شده، جداسازی و دانهٔ گردهٔ آنها

1. In vitro

جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که دانهٔ گردهٔ هر دو ژنوتیپ در مرحلهٔ نیمه‌باز دارای بیشترین درصد جوانه‌زنی است، ازاین‌رو در سایر آزمایش‌ها دربارهٔ مطالعهٔ دانهٔ گردهٔ هر دو ژنوتیپ 'کاشان' و 'آذران' گل محمدی، دانهٔ گرده در مرحلهٔ نیمه‌باز جمع‌آوری شد.

در این آزمایش، آماده‌سازی محیط‌های جوانه‌زنی با استفاده از روش احمدی صورت گرفت [۱]. به‌منظور جمع‌آوری دانه‌های گرده، گل‌ها از بوته‌های گل محمدی جدا و به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه، گلبرگ‌ها به‌آرامی از گل جدا شدند. سپس بساک‌ها با استفاده از پنس از میلهٔ پرچم جدا شدند و درون پتری‌دیش‌های استریل قرار گرفتند. برای آزاد شدن دانه‌های گرده از درون بساک‌ها، پتری‌دیش‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت درون دسیکاتور بر روی کلرید کلسیم قرار گرفتند. پس از تهیه و توزیع محیط‌های جوانه‌زنی در پتری‌دیش، دانه‌های گرده با استفاده از قلم‌موی نرم به‌صورت یکنواخت روی محیط‌های جوانه‌زنی پاشیده شدند. پتری‌دیش‌ها با پارافیلم درزگیری شدند و درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفتند. رشد لولهٔ گرده در پتری‌دیش‌ها، ۲۴ ساعت پس از کشت، با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر اسید استیک ۴۵ درصد تثبیت شد. سپس درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده و رشد لوله ارزیابی شد.

۲.۳. آزمایش سوم: بررسی اثر دمای نگهداری دانهٔ گرده و غلظت‌های مختلف پوترسین بر کارایی دانهٔ گرده

در این پژوهش، به‌منظور بررسی اثر دمای نگهداری دانهٔ گرده و غلظت‌های مختلف پوترسین بر کارایی دانهٔ گردهٔ دو ژنوتیپ گل محمدی ('کاشان' و 'آذران') در بازه‌های زمانی مختلف، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی با شانزده تیمار و چهار تکرار پیاده شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل چهار سطح پوترسین (غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۲/۵ میلی‌مولار) و چهار سطح دمای نگهداری دانهٔ گرده (۲۵، ۴، ۲۰- و ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد) بود. پتری‌دیش‌ها ۲۴ ساعت پس از کشت، با استفاده از ۰/۵ میلی‌لیتر اسید استیک ۴۵ درصد تثبیت و کارایی دانهٔ گرده هر یک از تیمارها بررسی شد.

در بررسی کارایی دانهٔ گرده، دو صفت درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده و طول لولهٔ گرده بررسی شد. به‌منظور محاسبهٔ درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده، پتری‌دیش‌ها در زیر میکروسکوپ فلورسانس (مدل المپیوس[1]) بررسی شد. در پنج میدان دید میکروسکوپ که به‌طور تصادفی انتخاب شده بود، عکس‌برداری از دانه‌های گرده توسط دوربین دیجیتال دی‌پی ۱۲[2] نصب‌شده روی میکروسکوپ و با فرمت تیف[3] صورت گرفت. در پنج میدان دید مورد نظر در هر واحد آزمایشی، دانهٔ گرده شمارش و درصد جوانه‌زنی از نسبت دانه‌های گردهٔ جوانه‌زده به کل دانه‌های گرده در هر میدان دید، محاسبه شد. دانهٔ گرده‌ای که طول لولهٔ گردهٔ آن برابر یا بیشتر از قطر دانهٔ گرده بود، جوانه‌زده محسوب شد [۱]. همچنین به‌منظور محاسبهٔ طول لولهٔ گرده، با استفاده از نرم‌افزار میکرو مژرمنت[4]، طول لولهٔ گردهٔ دو دانهٔ گرده در هر میدان دید و در مجموع ۱۰ دانهٔ گرده در هر واحد آزمایشی، اندازه‌گیری و میانگین طول لولهٔ گردهٔ ۱۰ دانهٔ گرده برای هر واحد آزمایشی گزارش شد.

داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و توسط همین نرم‌افزار و با آزمون چنددامنه‌ای دانکن، مقایسهٔ میانگین‌ها در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام گرفت.

1. Olympus
2. DP12
3. Tiff
4. Micro measurement 3.3

۳. نتایج

۱.۳. تأثیر محیط جوانه زنی و مرحلهٔ نمو گل بر جوانه‌زنی دانهٔ گرده

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌های مربوط به محیط‌های مختلف جوانه زنی نشان داد که اختلاف معناداری بین محیط‌های مختلف جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد به‌ترتیب در ژنوتیپ های 'آذران' و 'کاشان' وجود داشت (جدول ۲)، به‌طوری‌که بیشترین درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده در هر دو ژنوتیپ مربوط به محیط جوانه زنی M3 بود که محیط کامل‌تری در مقایسه با دو محیط دیگر است (شکل ۱).

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس اثر محیط جوانه‌زنی بر درصد جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ‌های 'آذران' و 'کاشان' گل محمدی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	'آذران'	'کاشان'
تیمار	۲	۱۱۹۸/۳**	۱۰۱/۴*
خطا	۹	۱/۹۰	۱۷/۷۲

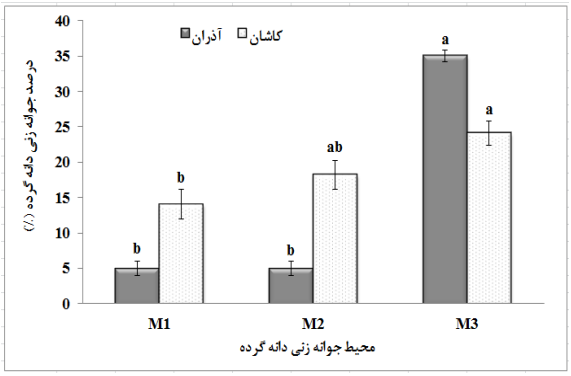
**، * و ns: به‌ترتیب اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنادار.

نتایج تجزیهٔ واریانس اثر مرحلهٔ نمو گل بر درصد جوانه زنی دانهٔ گرده نشان داد که اختلاف معناداری بین مراحل مختلف نمونه گیری در هر دو ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول ۳). همان‌طور که شکل ۲ نشان می‌دهد در هر دو ژنوتیپ، اختلاف معناداری از نظر درصد جوانه زنی دانهٔ گرده بین دو مرحلهٔ بسته و نیمه باز وجود نداشت. با وجود این، بیشترین و کمترین درصد جوانه زنی دانهٔ گرده در هر دو ژنوتیپ، به‌ترتیب در مراحل غنچه بسته و گل باز بود (شکل ۲).

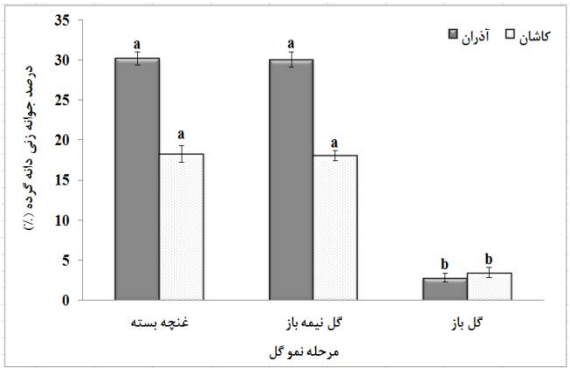
جدول ۳. تجزیهٔ واریانس اثر مرحلهٔ نمو گل بر درصد جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' گل محمدی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	'آذران'	'کاشان'
تیمار	۲	۹۹۴/۵**	۲۸۹/۶**
خطا	۹	۰/۸۵	۲/۴۶

**، * و ns: به‌ترتیب اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنادار



شکل ۱. اثر محیط‌های مختلف جوانه‌زنی بر درصد جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' گل محمدی تحت شرایط درون‌شیشه‌ای (در هر ژنوتیپ، تیمارهایی که در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند)



شکل ۲. اثر مرحلهٔ نمو گل بر درصد جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ گل محمدی ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' تحت شرایط درون‌شیشه‌ای (در هر ژنوتیپ، تیمارهایی که در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند)

۲.۳. بررسی اثر دمای نگهداری و پوترسین بر کارایی دانهٔ گرده

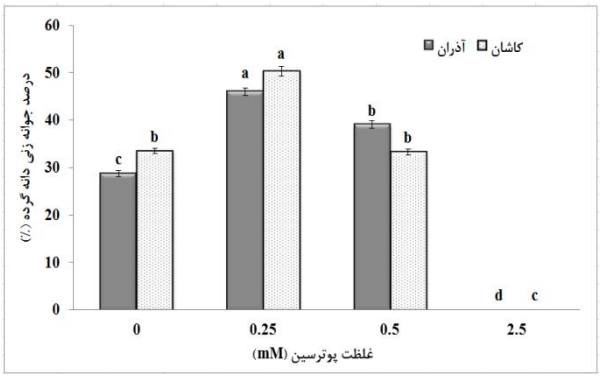
در بررسی اثر غلظت های مختلف پوترسین بر کارایی دانهٔ گردهٔ تازهٔ گل محمدی مشخص شد که اختلاف معناداری ($P \leq ۰/۰۱$) بین تیمارهای مختلف پوترسین از نظر درصد جوانه زنی دانهٔ گرده و نیز طول لولهٔ گرده در هر دو

ژنوتیپ ‘آذران’ و ‘کاشان’ وجود داشت (جدول ۴). به‌طوری‌که بیشترین درصد جوانه‌زنی و طول لولهٔ گرده در هر دو ژنوتیپ ‘آذران’ و ‘کاشان’، در غلظت ۰/۲۵ میلی مولار پوترسین مشاهده شد. همچنین در غلظت ۲/۵ میلی مولار پوترسین، درصد جوانه زنی صفر بود (شکل های ۳ و ۴).

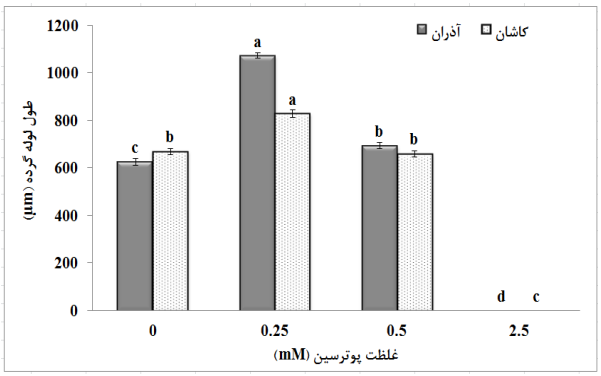
جدول ۴. تجزیهٔ واریانس اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر کارایی دانهٔ گردهٔ تازهٔ ژنوتیپ‌های ‘آذران’ و ‘کاشان’ گل محمدی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	ژنوتیپ ‘آذران’		ژنوتیپ ‘کاشان’	
		درصد جوانه‌زنی	طول لولهٔ گرده	درصد جوانه‌زنی	طول لولهٔ گرده
تیمار	۳	۱۶۳۸/۵**	۷۸۹۲۴۶/۵**	۱۷۷۸/۳**	۵۴۱۲۴۸/۶**
خطا	۱۲	۰/۸۰۲	۱۶۱/۵۱	۱/۵۱	۶۹/۵۷

**، * و ns: به‌ترتیب اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنادار.



شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر درصد جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ تازهٔ ژنوتیپ‌های ‘آذران’ و ‘کاشان’ گل محمدی (در هر ژنوتیپ، تیمارهایی که در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند)



شکل ۴. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر طول لولهٔ گردهٔ تازهٔ ژنوتیپ‌های ‘آذران’ و ‘کاشان’ گل محمدی (در هر ژنوتیپ، تیمارهایی که در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند)

تجزیهٔ واریانس مربوط به اثر متقابل غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر درصد جوانه زنی دانهٔ گردهٔ گل محمدی ژنوتیپ ‘آذران’ در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد که اثر متقابل پوترسین و دمای نگهداری و همچنین اثر هر یک از این عوامل به‌تنهایی در ۱۰ روز پس از جمع آوری دانهٔ گرده، معنادار بود ($P\leq$ ۰/۰۱). همچنین نتایج مشابهی در مورد اثر هر یک از عوامل و اثر متقابل آنها در بازه های زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از نگهداری دانهٔ گرده به دست آمد. نتایج مشابهی نیز در مورد طول لولهٔ گرده به دست آمد، به طوری که اثر متقابل پوترسین و دمای نگهداری و همچنین اثر هر یک از این عوامل به‌تنهایی بر طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ ‘آذران’ گل محمدی در بازه‌های زمانی ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول‌های ۵ و ۶).

جدول ۵. تجزیهٔ واریانس اثر دمای نگهداری و غلظت‌های مختلف پوترسین بر درصد جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ ‘آذران’ و ‘کاشان’ گل محمدی در بازه‌های زمانی مختلف

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	‘آذران’				‘کاشان’			
		۱۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز	۱۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
پوترسین	۳	۳۹۳۳/۱**	۲۸۸۵/۵**	۱۸۳۴/۳**	۷۱۳/۹**	۳۸۱۶/۴**	۲۴۱۷/۵**	۱۴۳۶/۴**	۵۲۱/۹**
دما	۳	۲۹۱/۹**	۲۰۴/۲**	۲۰۰/۷**	۶۶۴/۷**	۲۶۲/۰**	۳۷۱/۱**	۱۸۸/۱**	۲۴۲/۵**
پوترسین × دما	۹	۲۱/۱**	۳۰/۸**	۳۰/۴**	۱۰۸/۷**	۵۴/۸**	۷۳/۷**	۴۵/۱**	۴۹/۷**
خطا	۴۸	۱/۷۹	۱/۴۱	۲/۱۸	۱/۸۹	۳/۱۶	۲/۹۰	۱/۹۶	۱/۵۵

**، * و ns: به‌ترتیب اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنادار.

جدول ۶. تجزیهٔ واریانس اثر دمای نگهداری و غلظت‌های مختلف پوترسین بر طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ ‘آذران’ گل محمدی در بازه‌های زمانی مختلف

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	۱۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
پوترسین	۳	۱۰۱۶۳۷۸/۲**	۱۵۲۸۷۶۲/۲**	۱۱۴۴۹۷۰/۵**	۴۳۲۰۰۲/۶**
دما	۳	۱۰۷۰۶۱/۳**	۲۴۶۷۹/۷**	۴۱۵۱۸/۶**	۴۱۹۳۷۵/۳**
پوترسین × دما	۹	۲۲۰۵۴/۴**	۵۴۳۳/۴**	۱۱۴۲۹/۴**	۵۰۷۵۵/۹**
خطا	۴۸	۵۶۶۸/۴	۹۰/۹۷	۳۳۸/۲۴	۹۸/۸۱

**، * و ns: به‌ترتیب اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنادار.

بررسی اثر غلظت های مختلف پوترسین بر درصد جوانه زنی ژنوتیپ ‘آذران’ نشان داد که در بازهٔ زمانی ۱۰ روز نگهداری دانهٔ گرده، بیشترین و کمترین درصد جوانه زنی دانهٔ گرده به ترتیب در تیمارهای ۰/۲۵ (۳۸/۱۶ درصد) و ۲/۵ (۱/۳۵ درصد) میلی مولار پوترسین به دست آمد (جدول ۷). نتایج مشابهی در اثر غلظت‌های مختلف پوترسین بر درصد جوانه‌زنی و طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ ‘آذران’ در بازه‌های زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از نگهداری مشاهده شد، به‌طوری‌که بلندترین طول لوله‌های گرده در بازه‌های زمانی ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از نگهداری، با جوانه‌زنی دانه‌های گرده در محیط حاوی ۰/۲۵ میلی مولار پوترسین و کوتاه‌ترین طول لولهٔ گرده با جوانه‌زنی دانه‌های گرده در محیط حاوی ۲/۵ میلی‌مولار پوترسین به‌دست آمد. همچنین در ۱۰ روز پس از نگهداری، اختلاف معناداری بین طول لولهٔ گرده در محیط جوانه‌زنی شاهد و محیط جوانه‌زنی حاوی غلظت ۰/۵ میلی‌مولار پوترسین وجود نداشت (جدول‌های ۷ و ۸).

در ژنوتیپ ‘آذران’، در بازه های زمانی ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از نگهداری، بیشترین درصد جوانه زنی در هر چهار بازهٔ زمانی مربوط به دانه های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد و کمترین درصد جوانه‌زنی مربوط به دمای اتاق (۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد) بود. در زمینهٔ طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ ‘آذران’ در ۱۰ روز پس از نگهداری، دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۸۰-

(۵۸۴/۴۴ میکرومتـــر) و ۲۰- (۵۵۲/۰۹ میکرومتـــر) دارای بیشترین طول لولهٔ گرده بودند و بـین ایـن دو دمـا از نظـر طول لولهٔ گرده اختلاف معناداری وجود نداشت. همچنـین در دانه‌هـای گـرده‌ای کـه ۳۰ روز نگهـداری شـده بودنـد، بلنـدترین (۴۸۵/۰۹ میکرومتـر) و کوتـاه‌تـرین (۳۹۳/۳۱ میکرومتر) طول لولـهٔ گـرده را بـه‌ترتیـب دانـه‌هـای گـردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۸۰- و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد داشـتند (جدول ۷).

نتـایج مشـابهی در ۹۰ روز نگهـداری دانـهٔ گـرده نیـز به‌دست آمد. در دانه‌های گرده‌ای که ۶۰ روز نگهداری شده بودند، بلنـدترین طـول لولـهٔ گـرده در دمـای ۸۰- درجـهٔ سانتی‌گراد به‌دست آمد و بین طول لولهٔ گردهٔ دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۴ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گـراد اخـتلاف معناداری وجود نداشت. همان‌طورکه پیشتر ذکر شد، تجزیهٔ واریانس داده‌های حاصل از غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر درصد جوانـه زنـی دانـهٔ گـردهٔ ژنوتیـپ 'آذران' در بازه‌هـای زمـانی ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پـس از نگهداری، بیانگر معنادار بودن اثر متقابل دمای نگهـداری و پوترسین بر درصد جوانه زنی دانهٔ گرده در بازه های زمـانی مختلف بود. به‌طوری‌که دانه های گرده ای که در دمای ۸۰- درجـهٔ سـانتی‌گـراد نگهـداری و در محـیط حـاوی ۰/۲۵ میلی‌مولار پوترسین کشـت شـده بودنـد، بیشـترین درصـد جوانــه‌زنــی دانــهٔ گــرده را در هــر چهــار بــازهٔ زمــانی اندازه‌گیری‌شده داشتند.

جدول ۷. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر درصد جوانه‌زنی (٪) دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'آذران' گل محمدی در بازه‌های زمانی مختلف

پوترسین (mM)	دمای نگهداری (°c)	۱۰ روز†	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
۰	۲۵	۲۰/۶۱ g	۱۶/۱۲ h	۱۱/۲۲ h	۰/۰۰ h
	۴	۲۶/۵۰ e	۱۹/۳۶ g	۱۴/۶۵ ef	۴/۱۹ g
	-۲۰	۲۶/۲۷ e	۲۱/۴۸ f	۱۵/۳۲ de	۶/۹۸ f
	-۸۰	۳۱/۰۰ d	۲۷/۰۶ d	۱۸/۷۰ c	۱۲/۰۲ e
۰/۲۵	۲۵	۳۱/۳۵ d	۲۷/۰۵ d	۱۸/۱۹ c	۰/۰۰ h
	۴	۳۶/۰۹ c	۳۰/۹۵ c	۲۵/۹۲ b	۱۴/۴۳ cd
	-۲۰	۳۸/۹۹ b	۳۱/۵۹ c	۲۴/۴۵ b	۱۵/۹۷ c
	-۸۰	۴۶/۲۳ a	۳۵/۲۷ a	۳۳/۴۷ a	۲۸/۹۷ a
۰/۵	۲۵	۲۳/۰۵ f	۱۸/۳۷ g	۱۳/۰۹ fg	۰/۰۰ h
	۴	۲۵/۷۴ e	۲۱/۵۳ f	۱۷/۱۴ cd	۱۳/۱۴ de
	-۲۰	۲۶/۶۶ d	۲۳/۴۳ e	۱۶/۹۲ cd	۱۴/۲۴ cd
	-۸۰	۳۵/۵۳ c	۳۳/۳۳ b	۲۴/۸۳ b	۲۱/۷۷ b
۲/۵	۲۵	۰/۰۰ i	۰/۰۰ i	۰/۰۰ h	۰/۰۰ h
	۴	۰/۰۰ i	۰/۰۰ i	۰/۰۰ h	۰/۰۰ h
	-۲۰	۲/۴۵ h	۰/۰۰ i	۰/۰۰ h	۰/۰۰ h
	-۸۰	۲/۹۵ h	۰/۰۰ i	۰/۰۰ h	۰/۰۰ h

† تعداد روز پس از جمع‌آوری دانهٔ گرده (مدت نگهداری دانهٔ گرده)

- در هر ستون، تیمارهایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند.

کمترین درصد جوانه زنی نیز مربوط به بیشترین غلظت پوترسین (۲/۵ میلی‌مولار) و دمای ۲۵ و ۴ درجهٔ سانتی گراد بود. به‌عبارت دیگر در ۱۰ روز پس از نگهداری دانه‌های گرده، در محیط کشت فاقد پوترسین، بیشترین (۳۱ درصد) و کمترین (۲۰/۶۱ درصد) درصد جوانه زنی در دانه‌های گرده‌ای به‌دست آمد که به‌ترتیب در دمای ۸۰- و ۲۵ درجهٔ سانتی گراد نگهداری شده بودند. نتایج مشابهی نیز در ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از نگهداری دانه‌های گرده به‌دست آمد. در محیط کشت حاوی ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌مولار پوترسین نیز بیشترین درصد جوانه‌زنی در دانه‌های گردهٔ نگهداری شده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی گراد، و کمترین درصد جوانه‌زنی در دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی گراد مشاهده شد. با افزایش غلظت پوترسین در محیط جوانه‌زنی (۲/۵ میلی‌مولار)، کاهش معناداری در جوانه‌زنی دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دماهای مختلف مشاهده شد، به‌طوری‌که تمام دانه‌های گرده در محیط جوانه‌زنی حاوی ۲/۵ میلی‌مولار پوترسین جوانه‌زنی بسیار کم داشتند یا اصلاً جوانه نزدند (جدول ۷).

بررسی تجزیهٔ واریانس داده‌های مربوط به غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'آذران' در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد که همانند درصد جوانه زنی دانهٔ گرده، محیط حاوی ۰/۲۵ میلی‌مولار پوترسین و دمای نگهداری ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد، بیشترین طول لولهٔ گرده را داشت (جدول ۸).

جدول ۸. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر طول لولهٔ گرده (میکرومتر) ژنوتیپ 'آذران' گل محمدی در بازه‌های زمانی مختلف

پوترسین (mM)	دمای نگهداری (°C)	۱۰ روز†	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
۰	۲۵	۴۸۷/۰۹ f	۴۵۵/۱۹ i	۳۹۴/۷۰ h	۰/۰۰ g
	۴	۵۱۸/۰۲ ef	۴۹۳/۳۱ g	۴۳۱/۲۹ g	۳۱۹/۱۷ f
	-۲۰	۵۲۱/۵۹ ef	۵۰۳/۵۷ g	۴۴۲/۵۵ g	۳۷۰/۰۱ e
	-۸۰	۵۳۲/۱۰ ef	۵۱۸/۴۷ f	۴۷۹/۲۸ f	۳۷۸/۰۶ e
۰/۲۵	۲۵	۶۹۰/۶۲ bcd	۶۵۲/۰۹ d	۵۵۹/۱۲ c	۰/۰۰ g
	۴	۷۰۳/۱۱ bc	۶۸۱/۶۵ c	۵۲۵/۳۳ de	۴۳۵/۹۷ d
	-۲۰	۷۰۹/۱۲ ab	۷۴۳/۷۰ b	۶۰۱/۴۸ b	۴۵۴/۶۱ c
	-۸۰	۸۷۲/۶۷ a	۸۴۵/۴۴ a	۷۹۵/۷۱ a	۵۵۹/۸۷ a
۰/۵	۲۵	۵۰۷/۰۹ ef	۴۷۵/۹۵ h	۴۱۸/۹۰ gh	۰/۰۰ g
	۴	۵۲۴/۹۵ ef	۴۹۴/۴۸ g	۴۴۴/۰۴ g	۳۸۲/۵۱ e
	-۲۰	۵۸۰/۵۲ def	۵۲۶/۰۱ f	۴۹۹/۵۵ ef	۴۵۴/۶۲ c
	-۸۰	۶۱۸/۸۰ cde	۵۷۶/۴۵ e	۵۴۳/۰۴ cd	۴۷۲/۷۱ b
۲/۵	۲۵	۰/۰۰ h	۰/۰۰ j	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g
	۴	۰/۰۰ h	۰/۰۰ j	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g
	-۲۰	۳۱۶/۱۱ g	۰/۰۰ j	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g
	-۸۰	۳۱۴/۲۰ g	۰/۰۰ j	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g

† تعداد روز پس از جمع‌آوری دانهٔ گرده (مدت نگهداری دانهٔ گرده)

- در هر ستون، تیمارهایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند.

دانــه‌هــای گــرده در محــیط حــاوی ۲/۵ میلــی‌مــولار پوترسین، جوانه‌زنی بسیار کمی داشتند و ازاین‌رو رشد لولهٔ گرده در این محیط ناچیز یا صفر بود. بررسی دقیـق‌تـر اثـر غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ ‘آذران’ گل محمدی گواه ایـن اسـت کـه ۱۰ روز پس از نگهداری دانه‌های گـرده، طـول لولـهٔ گـرده در دانــه‌هــای گــردهٔ نگهــداری‌شــده در دماهــای ۸۰- درجــهٔ ســانتی‌گــراد و محــیط کشــت حــاوی ۰/۲۵ میلــی‌مــولار پوترسین، اختلاف معناداری با سایر تیمارها داشـت. نتـایج مشابهی در ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز نگهداری دانهٔ گرده به دسـت آمد. همچنین بررسی تیمارها نشان داد که به‌طور کلی پـس از تیمار پوترسین ۰/۲۵ میلی‌مولار همراه با دمای نگهـداری ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد، تیمـار پوترسـین ۰/۲۵ میلـی‌مـولار همراه بـا دمـای ۲۰- درجـهٔ سـانتی‌گـراد و پوترسـین ۰/۵ میلی‌مولار همراه با دمای نگهداری ۸۰- درجهٔ سـانتی‌گـراد بهترین تیمار در بازه‌هـای زمـانی مختلـف بودنـد کـه ایـن موضوع، بیانگر اثر زیاد دمای کم (۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد) و غلظت کم پوترسین (۰/۲۵ میلی‌مولار) در حفظ قـوهٔ نامیـهٔ دانهٔ گرده است. در مقابل دمای زیاد نگهداری (دمای اتاق) و غلظت‌های زیاد پوترسین (۲/۵ میلی‌مولار) اثـر معکـوس بر حفظ قوهٔ نامیهٔ دانهٔ گرده داشتند (جدول ۸).

تجزیهٔ واریانس اثر متقابل غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری و اثر هر یک از عوامل به‌تنهایی بر درصد جوانه زنی دانهٔ گرده و طول لولـهٔ گـردهٔ ژنوتیـپ ‘کاشـان’ نشان می‌دهد که اثر متقابل پوترسین و دما و نیز اثر هر یک از عوامـل بـه‌تنهـایی بـر درصـد جوانـه‌زنـی دانـهٔ گـرده ($P\leq$ ۰/۰۱) و طول لولهٔ گرده ($P\leq$ ۰/۰۱) ژنوتیپ ‘کاشان’ در بازه‌های زمانی مطالعه شده معنادار است (جدول‌هـای ۵ و ۹). بررسی مقایسهٔ میانگین داده‌ای حاصل از غلظت‌هـای مختلف پوترسین بر درصد جوانه‌زنـی و طـول لولـهٔ گـردهٔ ژنوتیپ ‘کاشان’ در بازه‌های زمـانی ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز نگهداری دانهٔ گرده، نشان داد که بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی در هر چهار بازهٔ زمانی بررسی‌شده، به‌ترتیـب در محیط جوانه زنی حاوی ۰/۲۵ و ۲/۵ میلی مـولار پوترسـین بود. درحالی که در محیط حاوی ۲/۵ میلی‌مولار پوترسـین در تمام بازه‌های زمانی، درصد جوانه‌زنی و طول لولهٔ گرده صفر بود. در مورد طول لولهٔ گرده، در تمام بازه‌های زمـانی ذکرشده، بلندترین طول لولهٔ گـرده در محـیط جوانـه زنـی حاوی ۰/۲۵ میلی مولار پوترسین مشاهده شد. به‌طور کلـی می‌توان گفت کاربرد کمترین مقدار پوترسین، بیشترین تأثیر را در بهبود کارایی دانـهٔ گـرده در ژنوتیـپ هـای ‘آذران’ و ‘کاشان’ گل محمدی دارد.

جدول ۹. تجزیهٔ واریانس اثر دمای نگهداری و غلظت‌های مختلف پوترسین بر طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ ‘کاشان’ گل محمدی در بازه‌های زمانی مختلف

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	۱۰ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
پوترسین	۳	۱۵۳۰۳۲۶/۰**	۱۱۶۵۴۳۴/۷**	۶۶۷۱۱۳/۴**	۲۲۸۵۸۴/۵**
دما	۳	۲۵۲۷۶/۰**	۲۹۸۴۷/۸**	۷۰۷۶۱/۲**	۹۲۴۹۱/۳**
پوترسین × دما	۹	۹۳۵۴/۳**	۱۴۴۵۴/۲**	۱۵۰۳۰/۷**	۱۱۵۶۲/۷**
خطا	۴۸	۳۶/۷۹	۴۵/۳۶	۲۵۳/۳۵	۲۸۲۹/۲۹

**، * و ns: به‌ترتیب اختلاف معنادار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنادار.

بررسی اثر دماهای مختلف نگهداری دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'کاشان' بر درصد جوانه‌زنی و طول لولهٔ گرده در بازه‌های زمانی ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از نگهداری گواه این بود که بیشترین درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده در تمام بازه‌های زمانی، در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد و کمترین درصد جوانه‌زنی در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد بود. بلندترین طول لولهٔ گرده نیز در تمام بازه‌های زمانی مربوط به دانه‌های گردهٔ نگهداری شده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد بود. در ۱۰ و ۳۰ روز پس از نگهداری دانهٔ گرده، طول لوله‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۲۵ و ۴ درجهٔ سانتی‌گراد اختلاف معناداری در سطح احتمال ۱ درصد نداشتند. همچنین اختلاف معناداری ($P\leq$ ۰/۰۱) از نظر طول لولهٔ گرده بین دمای نگهداری ۲۰- و ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد در ۹۰ روز پس از نگهداری دانه‌های گرده مشاهده نشد.

بررسی مقایسهٔ میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر درصد جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'کاشان' در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد که همانند ژنوتیپ 'آذران'، بیشترین درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده (۴۵/۸۱ درصد) در ۱۰ روز پس از نگهداری آن، در دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد و محیط حاوی ۰/۲۵ میلی‌مولار پوترسین مشاهده شد، درحالی که درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده در تمام دماهای نگهداری، با کاربرد ۲/۵ میلی‌مولار پوترسین در محیط جوانه‌زنی، صفر بود. نتایج مشابهی در سایر بازه‌های زمانی بررسی‌شده به‌دست آمد، به‌طوری که دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد که در محیط حاوی ۰/۲۵ میلی‌مولار پوترسین کشت شدند، بیشترین درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده در ۳۰ (۴۲/۸۱ درصد)، ۶۰ (۳۱/۶۳ درصد) و ۹۰ (۱۹/۸۹ درصد) روز پس از نگهداری دانهٔ گرده را داشتند. به‌طور کلی می‌توان گفت نگهداری دانهٔ گرده در دمای کم (۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد) و کشت آن در محیط حاوی کمترین مقدار پوترسین (۰/۲۵ میلی‌مولار) سبب دستیابی به بیشترین درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده می‌شود. همچنین بررسی روند جوانه‌زنی دانهٔ گرده در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد که با گذشت زمان، درصد جوانه‌زنی دانهٔ گرده کاهش می‌یابد که این روند کاهش جوانه‌زنی با کاربرد غلظت کم پوترسین و با نگهداری در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد کندتر خواهد بود (جدول ۱۰).

بررسی اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر طول لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'کاشان' در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد که در محیط کشت فاقد پوترسین، ۱۰ و ۳۰ روز پس از نگهداری دانهٔ گرده، طول لوله‌های گرده اختلاف معناداری نداشتند. در محیط جوانه‌زنی ذکرشده، ۶۰ روز پس از نگهداری، طول لوله‌های گرده در دمای ۸۰- و ۲۰- اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند، ولی با دماهای نگهداری ۴ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد اختلاف معناداری را نشان دادند. همچنین در ۹۰ روز پس از نگهداری، به‌ترتیب بلندترین و کوتاه‌ترین طول لوله‌های گرده در دمای ۸۰- و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد در محیط کشت فاقد پوترسین به‌دست آمد (جدول ۱۱).

در محیط جوانه‌زنی حاوی ۰/۲۵ میلی‌مولار پوترسین، ۱۰ روز پس از نگهداری، بلندترین طول لولهٔ گرده در دمای ۲۰- (۷۷۹/۳۰ میکرومتر) و ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد (۸۰۲/۵۴ میکرومتر) به‌دست آمد که طول لولهٔ گرده در این دو دما اختلاف معناداری با یکدیگر نداشتند. نتیجهٔ مشابهی در ۳۰ و ۹۰ روز پس از نگهداری نیز به‌دست آمد. در ۶۰ روز پس از نگهداری دانه‌های گرده، بلندترین طول لولهٔ گرده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد (۵۸۶/۶۰ میکرومتر) به‌دست آمد که با سایر دماها اختلاف معناداری نشان داد (جدول ۱۱). با توجه به جدول ۱۱، در محیط کشت دارای

۰/۵ میلی‌مولار پوترسین، ۱۰ روز پس از نگهداری، بلندترین طول لولهٔ گرده در دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۸۰- و ۲۰- درجهٔ سانتی گراد به‌دست آمد که اختلاف معناداری بین طول لوله‌های گرده در این دو دما وجود نداشت. در ۳۰ و ۶۰ روز پس از نگهداری دانهٔ گرده نیز بلندترین طول لوله‌های گرده در دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد به‌دست آمد. در ۹۰ روز پس از نگهداری دانهٔ گرده بین طول لوله های گردهٔ نگهداری‌شده در دماهای ۴، ۲۰- و ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد اختلاف معناداری مشاهده نشد. برخلاف غلظت‌های کم پوترسین، در محیط کشت حاوی ۲/۵ میلی‌مولار پوترسین، در هیچ یک از دماهای بررسی‌شده، دانهٔ گرده جوانه نزد و رشد لولهٔ گرده صفر بود (جدول ۱۱). به‌طور کلی با بررسی اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و دماهای نگهداری دانهٔ گرده بر رشد لولهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'کاشان' گل محمدی می‌توان بیان کرد که دمای نگهداری ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد به‌همراه وجود ۰/۲۵ میلی‌مولار پوترسین در محیط جوانه‌زنی، بهترین تیمار برای دستیابی به حداکثر طول لولهٔ گرده در بازه‌های زمانی مختلف است که البته اختلاف معناداری بین دمای نگهداری ۸۰- و ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد وجود ندارد (جدول ۱۱).

جدول ۱۰. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر درصد جوانه‌زنی (٪) دانهٔ گردهٔ ژنوتیپ 'کاشان' گل محمدی در بازه‌های زمانی مختلف

پوترسین (mM)	دمای نگهداری (°C)	۱۰ روز†	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
۰	۲۵	۲۱/۴۴ h	۱۶/۰۵ ef	۸/۲۵ f	۰/۰۰ g
	۴	۲۵/۰۶ f	۱۶/۷۵ ef	۷/۷۹ f	۱/۹۰ f
	-۲۰	۲۴/۵۹ fg	۱۵/۵۹ f	۹/۴۱ f	۴/۵۶ e
	-۸۰	۲۹/۳۰ e	۲۴/۵۷ c	۱۳/۲۵ e	۴/۸۰ e
۰/۲۵	۲۵	۲۴/۳۶ fg	۱۸/۵۵ e	۱۷/۰۲ cd	۱/۷۳ f
	۴	۳۵/۳۱ c	۲۶/۷۲ bc	۱۸/۹۴ c	۱۲/۶۹ c
	-۲۰	۳۸/۰۶ b	۲۶/۷۵ bc	۲۱/۰۳ b	۱۴/۶۷ b
	-۸۰	۴۵/۸۱ a	۴۲/۸۱ a	۳۱/۶۳ a	۱۹/۸۹ a
۰/۵	۲۵	۲۲/۱۴ gh	۱۶/۴۷ ef	۸/۰۵ f	۰/۳۶ g
	۴	۲۶/۹۶ ef	۲۱/۰۵ d	۱۶/۷۴ d	۱۱/۰۰ d
	-۲۰	۲۸/۱۷ e	۲۱/۸۵ d	۱۸/۳۵ cd	۱۱/۱۹ d
	-۸۰	۳۲/۲۹ d	۲۸/۹۷ b	۲۱/۲۳ b	۱۴/۳۰ b
۲/۵	۲۵	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g
	۴	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g
	-۲۰	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g
	-۸۰	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g	۰/۰۰ g

† تعداد روز پس از جمع‌آوری دانهٔ گرده (مدت نگهداری دانهٔ گرده)

- در هر ستون، تیمارهایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند.

جدول ۱۱. اثر غلظت‌های مختلف پوترسین و دمای نگهداری بر طول لولهٔ گرده (میکرومتر) ژنوتیپ 'کاشان' گل محمدی در بازه‌های زمانی مختلف

پوترسین (میلی‌مولار)	دمای نگهداری (°C)	۱۰ روز†	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
۰	۲۵	۵۰۲/۰۵ c	۴۳۳/۴۰ d	۲۴۰/۹۰ g	۰/۰۰ g
	۴	۴۹۰/۷۰ c	۳۹۹/۰۵ d	۳۰۲/۶۶ f	۱۵۴/۹۵ e
	−۲۰	۴۹۳/۵۰ c	۳۸۹/۷۵ d	۳۴۸/۲۱ e	۱۹۶/۶۶ de
	−۸۰	۴۹۹/۹۷ c	۳۹۵/۲۷ d	۳۴۹/۷۴ e	۱۹۱/۴۸ de
۰/۲۵	۲۵	۶۱۱/۳۱ b	۵۱۶/۸۷ c	۴۱۳/۲۷ d	۱۲۶/۹۶ ef
	۴	۶۳۵/۸۱ b	۵۷۴/۳۲ b	۴۲۳/۰۳ cd	۲۶۷/۸۶ bcd
	−۲۰	۷۷۹/۳۰ a	۶۹۷/۹۸ a	۵۰۴/۱۵ b	۳۳۹/۸۳ ab
	−۸۰	۸۰۲/۵۴ a	۷۳۵/۳۳ a	۵۸۶/۶۰ a	۳۸۵/۶۶ a
۰/۵	۲۵	۵۲۲/۷۵ c	۴۱۱/۹۲ d	۲۲۲/۳۰ h	۵۴/۱۹ fg
	۴	۵۲۵/۲۵ c	۴۱۰/۷۲ d	۲۴۵/۲۰ g	۲۴۴/۰۸ cd
	−۲۰	۶۲۸/۹۴ b	۵۲۲/۱۴ c	۴۳۱/۰۸ c	۲۴۹/۳۱ cd
	−۸۰	۶۳۱/۹۷ b	۵۸۴/۵۷ b	۵۰۹/۸۳ b	۲۸۲/۵۵ bc
۲/۵	۲۵	۰/۰۰ d	۰/۰۰ e	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g
	۴	۰/۰۰ d	۰/۰۰ e	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g
	−۲۰	۰/۰۰ d	۰/۰۰ e	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g
	−۸۰	۰/۰۰ d	۰/۰۰ e	۰/۰۰ i	۰/۰۰ g

† تعداد روز پس از جمع‌آوری دانهٔ گرده (مدت نگهداری دانهٔ گرده)

– در هر ستون، تیمارهایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، از نظر آماری در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنادار ندارند.

۴. بحث

۴.۱. آزمایش های اول و دوم: محیط‌های مختلف جوانه‌زنی و مرحلهٔ نمونه‌گیری گل

نتایج این آزمایش نشان داد که بهترین محیط برای جوانه زنی هر دو ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' گل محمدی محیط M_3 حاوی ۳۰۰ ppm نیترات کلسیم، ۲۰۰ ppm سولفات منیزیم، ۱۰۰ ppm نیترات پتاسیم، ۱۰۰ ppm اسید بوریک، ۱۵ درصد ساکارز و ۱/۲ درصد آگار بود که با مطالعات پیشین دربارهٔ گونه های مختلف رز مطابقت دارد [۲۴، ۳۶ ، ۳۸]. افزایش اسید بوریک در محیط حاوی ساکارز، درصد جوانه زنی را افزایش می دهد. سرعت جوانه‌زنی دانهٔ گردهٔ رز در محیط جوانه‌زنی حاوی ساکارز به‌تنهایی، کم است، درحالی‌که با اضافه شدن اسید بوریک به محیط، جوانه زنی دانهٔ گرده بهبود می یابد [۲۲]. همچنین مشخص شده است که بهترین غلظت ساکارز در محیط جوانه زنی ۱۵ درصد است [۳۸]. در تحقیقات دربارهٔ رز هیبرید تی، بیشترین درصد جوانه زنی دانهٔ گرده، با کاربرد ۱۵ درصد ساکارز گزارش شده است [۳۶ ، ۳۸]. درحالی‌که

برخی گزارش‌ها غلظت ۲۰ درصد ساکارز را برای *Rosa rugosa* پیشنهاد کرده‌اند [۱۳]. علاوه‌بر اسید بوریک و ساکارز، مشخص شده است که غلظت کلسیم بر جوانه زنی دانهٔ گردهٔ شش گونه رز در شرایط درون‌شیشه‌ای مؤثر است و سبب افزایش درصد جوانه زنی و رشد لولهٔ گرده و کاهش نیاز به ساکارز در محیط کشت (در دمای ۲۸ تا ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد) می‌شود [۱۴ ، ۴۱].

در این آزمایش، در بررسی مراحل مختلف گل برای نمونه گیری دانهٔ گرده در دو ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' گل محمدی مشخص شد که اختلاف معناداری بین دو مرحلهٔ گل نیمه‌باز و غنچهٔ بسته وجود نداشت که این نتایج تأییدکنندهٔ گزارش های دیگر دربارهٔ رز است [۲۴ ، ۲۶]. با وجود این، برخی محققان گزارش کرده اند که دانهٔ گردهٔ رز هیبرید تی، زمانی که در مرحلهٔ گل کاملاً باز برداشت می‌شود، بیشترین جوانه‌زنی را دارد [۳۶].

۲.۴. آزمایش سوم: اثر دمای نگهداری و پوترسین بر کارایی دانهٔ گرده

براساس نتایج این آزمایش، غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار پوترسین و دمای نگهداری ۸۰- درجهٔ سانتی گراد، بهترین وضعیت برای جوانه‌زنی دانهٔ گرده و رشد لولهٔ گرده در این دو ژنوتیپ گل محمدی است [۳ ، ۱۵ ، ۳۹]. بهترین شرایط برای نگهداری دانهٔ گردهٔ رز، وضعیت خشک و دمای کم است [۳۹]. دانه‌های گردهٔ *Cherimoya* که در دمای ۴ درجهٔ سانتی گراد نگهداری شده بودند، عمر بسیار کوتاهی داشتند و جوانه زنی آنها بعد از شش روز نگهداری به‌شدت کاهش یافت، اما اختلاف معناداری بین دماهای ۱۹۶-، ۸۰- و ۲۰- از نظر جوانه‌زنی دانهٔ گرده، پس از ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز مشاهده نشد [۱۵]. البته نتایج ما نشان داد که با گذر زمان در همهٔ تیمارهای مطالعه شده در هر دو ژنوتیپ 'کاشان' و 'آذران'، درصد جوانه زنی کاهش یافت که این کاهش با غلظت کم پوترسین (۰/۲۵ میلی مولار) و دمای نگهداری کم (۸۰- درجهٔ سانتی گراد) کمتر بود [۱۱]. مطالعات در مورد دانهٔ گردهٔ *Hedychium* spp. نشان داد زمانی که دانه‌های گرده تازه بودند، بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشتند و دانه‌های گرده‌ای که دو ماه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند، کمترین درصد جوانه زنی را دارا بودند [۲۵]. نتایج مشابهی مبنی بر کاهش جوانه زنی دانهٔ گرده در طول مدت نگهداری و اثر مثبت دماهای کم در کند کردن روند کاهش جوانه زنی دانهٔ گرده در طول مدت نگهداری گزارش شده است [۱۹] که آزمایش‌های ما نیز تأییدکنندهٔ این گزارش‌ها است.

علل زوال دانه های گرده در زمان نگهداری، عبارت است از درهم ریختن فضای بین‌سلولی، کاهش فعالیت آنزیم‌ها، تجمع رادیکال‌های آزاد و ازدست رفتن آب [۳۲]. قوهٔ نامیهٔ دانهٔ گرده در وضعیت طبیعی به‌سرعت کاهش می‌یابد و در بیشتر ارقام دانهٔ گرده بعد از یک ماه از بین می‌رود. درحالی‌که قوهٔ نامیه در سرمای ۴- تا ۶- درجهٔ سانتی گراد با سرعت کمتری کاهش می‌یابد [۳۹]. زنده‌مانی طولانی‌مدت از طریق نگهداری دانهٔ گرده در ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد یا نیتروژن مایع یا بخار نیتروژن مایع (۱۹۶- درجهٔ سانتی گراد) نیز امکان‌پذیر است [۱۱]. مطالعات دربارهٔ نگهداری دانهٔ گردهٔ دو رقم رز انگلیسی گواه این بود که نگهداری دانهٔ گردهٔ گل رز در دماهای ۲۰- و ۴+ درجهٔ سانتی گراد، سبب کاهش سریع قوهٔ نامیه شد، درحالی‌که سرعت کاهش قوهٔ نامیهٔ دانه‌های گردهٔ نگهداری‌شده در دماهای خیلی کم (۱۹۶- درجهٔ سانتی گراد)، بسیار اندک بود [۱۸]. نتایج مشابهی نیز در نگهداری دانهٔ گردهٔ مرکبات به دست آمد که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت [۲].

پلی‌آمین‌ها تأثیر زیادی بر فرایندهای رشد گرده دارند. رشد لولهٔ گرده به غلظت‌های زیاد پلی‌آمین حساس است و

غلظت زیاد پلی‌آمین‌ها بر جوانه‌زنی دانهٔ گرده اثر منفی دارد [۴۰]. اسپرمیدین در غلظت ۵ میلی مولار و اسپرمین در غلظت ۰/۵ میلی مولار، صرف‌نظر از دما، اثر بازدارندگی بر جوانه زنی دانهٔ گرده دارد [۲۸]. نتایج این آزمایش نیز نشان داد که در هر دو ژنوتیپ بررسی‌شدهٔ گل محمدی، کاربرد مقادیر زیاد پلی آمین پوترسین اثر منفی بر کارایی دانهٔ گردهٔ گل محمدی داشت و در افزایش درصد جوانه‌زنی و طول لولهٔ گرده، تأثیر غلظت‌های کم پوترسین بیش از نبود یا غلظت زیاد پوترسین بود. مطالعات در مورد بادام [۲۹]، *Prunus mume* [۴۰] و سیب [۴۲] نیز نشان داد که کاربرد غلظت‌های کم پلی‌آمین‌ها (پوترسین، اسپرمیدین و اسپرمین) اثر تحریک‌کنندگی بر جوانه زنی دانهٔ گرده دارد و در مقابل، غلظت‌های زیاد از جوانه زنی دانهٔ گرده جلوگیری می‌کند که نتایج این آزمایش نیز گواه بر همین موضوع است. احتمالاً این اثر منفی به‌دلیل اثر سمی پلی‌آمین‌ها در غلظت‌های زیاد است [۶].

به طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که غلظت ۰/۲۵ میلی مولار ($۱۰^{-۵}$ × ۲۵ مولار) پوترسین در هر دو ژنوتیپ 'آذران' و 'کاشان' گل محمدی، بهترین غلظت برای دستیابی به حداکثر درصد جوانه‌زنی و طول لولهٔ گرده بود و غلظت‌های بیشتر اثر منفی بر کارایی دانهٔ گرده هر دو ژنوتیپ بررسی‌شده داشت.

منابع

۱. احمدی ن ا (۱۳۷۸) اثرات شرایط محیطی و روش‌های نگهداری بر جوانه زنی دانهٔ گردهٔ مرکبات. پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس. تهران.

۲. احمدی ن ا، ارزانی ک و معینی ا (۱۳۸۰) مطالعهٔ نگهداری، جوانه زنی و رشد لولهٔ گرده برخی از ارقام مرکبات. نهال و بذر. ۱۷ (۲): ۲۱۶-۲۲۹.

3. Acar I and Kakani VG (2010) The effects of temperature on in vitro pollen germination and pollen tube growth of *Pistacia* spp. Scientia Horticulturae. 125: 569-572.

4. Broertjes C and Van Harten AM (1988) Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops. Developments in Crop Science. 12: 197-204.

5. Buitink J, Leprince O, Hemminga MA and Hoekstra FA (2000) The effects of moisture and temperature on the ageing kinetics of pollen: interpretation based on cytoplasmic mobility. Plant, Cell and Environment. 23: 967–974.

6. Cetin E, Yldrm C, Palavan-Ünsal N and Ünal M (2000) Effect of spermine and cyclohexylamine on in vitro pollen germination and tube growth in *Helianthus annuus*. Canadian Journal of Plant Science. 80: 241-245.

7. Chibi F, Matilla AJ, Angosto T, Garrido D and Bornman CH (1994) Changes in polyamine synthesis during anther development and pollen germination in tobacco (*Nicotiana tabacum*). Physiologia Plantarum. 92: 61-68.

8. Dafni A and Firmage D (2000) Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. Plant Systematic Evolution. 222: 113-132.

9. Ercisli S (2007) Determination of pollen viability and in vitro pollen germination of *Rosa Dumalis* and *Rosa vilosa*. Bangladesh Journal of Botany. 36(2): 185-187.

10. Gomez PM, Dicenta F and Ortega E (2001) Short term pollen storage in almond. Departamento de Mejora y Patología Vegetal, CEBAS-CSIC, Murcia, Spain.

11. Hanna WW and Towill LE (1995) Long-term pollen storage. Plant Breeding Reviews 13: 179-207.

12. Hoekstra FA (2005) Differential longevities in desiccated anhydrobiotic plant systems. Integrated and Comparative Biology. 45: 725-733.

13. Khan MA (1987) Germination and storage of Rosa pollen. Pakistanian Journal of Agriculture Research. 8: 67-70.

14. Končalová MN, Jičínská D and Sýkorová O (1976) Effect of calcium and sucrose concentration on pollen germination in *vitro* of six *Rosa* species. Biologia Plantarum. 18: 26-30.

15. Lora J, Pérez de Oteyza MA, Fuentetaja P and Hormaza JI (2006) Low temperature storage and in vitro germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) pollen. Scientia Horticulturae. 108: 91-94.

16. Luza JG and Polito VS (1987) Effects of desiccation and controlled rehydration on germination *in vitro* of pollen of walnut (*Juglans* spp.). Plant, Cell and Environment. 10: 487-492.

17. Ma LG, Fan QS, Yu ZQ, Zhou HL, Zhang FZ and Sun DY (2000) Does Aluminum inhibit pollen germination via extracellular Calmodulin. Plant Cell Physiology. 41: 372-376.

18. Marchant R, Power JB, Davey MR, Chartier JM and Lynch PT (1992) Cryopreservation of pollen from two rose cultivars. Euphytica. 66: 235-241.

19. Masum Akonda ASMG, Poundersb CT, Blythec EK and Wang X (2012) Longevity of *Crapemyrtle* pollen stored at different temperatures. Scientia Horticulturae. 139: 53-57.

20. Prakash L, John P, Nair GM and Prathapasenan G (1988) Effect of spermidine and methylglyoxalbis (guanyl-hydrazone) (MGBG) on *in vitro* pollen germination and tube growth in *Catharanthus roseus*. Annals of Botany. 61: 373-375.

21. Rajam MV (1989) Restriction of pollen germination and tube growth in lily pollen by inhibitors of polyamine metabolism. Plant Science. 59: 53-56.

22. Rajasekharan PE and Ganeshan S (1994) Freeze preservation of rose pollen in liquid nitrogenfeasibility, viability and fertility status after long-term storage. Journal of Horticultural Science. 69: 565-569.

23. Reed BM (2008) Plant Cryopreservation: A Practical Guide. Springer. 513 pp.

24. Richer C, Poulin M and Rioux GA (2006) Factors influencing pollen germination in three Explorer™ roses. Canadian Journal of Plant Science. 87: 115-119.

25. Sakhanokho HF and Rajasekaran K (2009) Pollen biology of ornamental ginger (*Hedychium* spp. J. Koenig). Scientia Horticulturae. 129-135.

26. Sharafi Y, Babashpour M and Karimi M (2010) *In vitro* pollen germination and pollen tube growth in some hawthorn genotypes. International medicinal and aromatic plants. Shiraz. Iran. Pp. 29-31.

27. Singh VV and Tandon R (2012) Poly Ethylene Gelycol and polyamines promote pollen germination and Tube growth in *Azadira chintadica* (*Meliaceae*). The International Journal of Plant Reproductive Biology. 4(1): 23-29.

28. Song J, Nada K and Tachibana S (1999) Ameliorative effect of polyamines on the high temperature inhibition of *in vitro* pollen germination in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Scientia Horticulturae. 80: 203-212.

29. Sorkheh K, Shiran B, Rouhi V, Khodambashi M, Wolukau JN and Ercisli S (2011) Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of almond (*Prunus dulcis* Mill.) to temperature, polyamines and polyamine

synthesis inhibitor. Biochemical Systematics and Ecology. 39: 749-757.

30. Stosser R, Hartman W and Anvari SF (1996) General aspects of pollination and fertilization of pomes and stone fruits. Acta Horticulturae. 423: 15-21.

31. Tandon R, Manohara TN, Nijalingappa BHM and Shivanna KR (1999) Polyethylene glycol enhances *in vitro* germination and tube growth of oil palm pollen. Indian Journal of Experimental Botany. 37: 169-172.

32. Taylor LP and Hepler PK (1997) Pollen germination and tube growth. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 48: 461-491.

33. Thomas T and Thomas TJ (2003) Polyamine metabolism and cancer. Cellular and Molecular Medicine. 7(2): 113-126.

34. Towill LE (2004) Pollen storage as a conservation tool. In: Guerrant EO, Havens K, Maunder M, editors. *Ex Situ* Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild. Island Press, Washington DC. 180-188.

35. Van Bilsen DGJL, Hoekstra FA, Crowe LM and Crowe JH (1994) Altered phase behavior in membranes of aging dry pollen may cause imbibition leakage. Plant Physiology. 104: 1193-1199.

36. Visser T, Vries DP, Welles GWH and Scheurink JAM (1977) *Hybrid tea-rose* pollen. I. germination and storage. Euphytica. 26: 721-728.

37. Volk GM (2011) Collecting pollen for genetic resources conservation. In: Guarino L., Ramanatha Rao V., Goldberg E., editors. Collecting Plant Genetic Diversity: Technical Guidelines- 2011 Update. Bioversity International, Rome, Italy. Chapter 25. Available: http://cropgenebank.sgrp.cgiar.org/index.php?

38. Voyiatzi CI (1995) An assessment of the *in vitro* germination capacity of pollen of five tea hybrid rose cultivars. Euphytica. 83: 199-204.

39. Wen-Li W, Lan-Yong Z, Cui-Ying Z, Cheng-shu Z, You-peng Z and Cui-Fang G (2009) Studies on Pollen Viability and Its Storage Conditions of *Pingyin Rose*. Acta Horticulturae. 36(4): 593-598.

40. Wolukau JN, Zhang Sh, Xu G and Chen D (2004) The effect of temperature, polyamines and polyamine synthesis inhibitor on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of *Prunus mume*. Scientia Horticulturae. 99: 289-299.

41. XiuZhi CH and Hong CH (2010) Screening for culture medium for *Rose roxburghii* pollen germination. Guizhou Agricultural Sciences. 10: 28-30.

42. Xu JZ, Chen HJ, Shao JZ and Wang YN (1999) Effects of exogenous polyamines and their inhibitor MGBG on the apple pollen germination and fruit set. Journal of Agricultural University Hebei (China). 22: 42-45.