همایش ملی علوم زیستی

۷و۸اسفند ۹۲

National Conference of Biological Sciences

پاسخ جوانه زنی دانه و رشد لوله گرده سیب به تنش سرما در شرایط درون شیشه

رضایی آیت ا...[۱و*]، کردنائیج علاءالدین[۱و۲]، شرفی یاور[۳]، فلاح مهدی[۳]

[۱]- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۲]- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۳]- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: arezaei@shahed.ac.ir

چکیده

در این تحقیق جوانه‌زنی دانه گرده و رشد لوله گرده در چند رقم سیب شامل Golden delicious (GD)، Red delicious (RD)، Galla (G) و Fuji (F) تحت تاثیر تنش سرما در شرایط درون شیشه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور دانه های گرده بطور یکنواخت در محیط کشت جامد کشت شدند. کشتهای دانه گرده به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه جهت اعمال تنش سرما در انکوباتور در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد به مدت ٦ ساعت و گروهی دیگر نیز به همین مدت در دمای آزمایشگاه (۰/۵±۲٤ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ارقام مورد بررسی در خصوص میزان جوانه زنی دانه گرده در شرایط معمولی متفاوت بودند. در پاسخ به تنش سرما در کلیه ارقام مورد بررسی کاهش در میزان جوانه زنی دانه گرده بصورت قابل توجهی صورت گرفت و در این شرایط بیشترین و کمترین میزان جوانه زنی دانه گرده به میزان ٤۰ درصد و ۱۰ درصد در ارقام GD و RD به ترتیب اندازه گیری شد. ارقام بررسی شده در خصوص رشد لوله گرده نیز در دمای معمولی تفاوت معنی دار نشان دادند. رشد لوله گرده نیز در همه ارقام مورد بررسی تحت تاثیر تنش سرما نسبت به دمای معمولی کاهش یافت. در این خصوص رقم GD تحت این شرایط بیشترین حساسیت و ارقام RD و G کمترین حساسیت را نشان دادند. با توجه به نتایج بدست آمده میتوان گفت که تنش سرما هر دو پارامتر جوانه زنی و رشد لوله گرده را کاهش داد و همچنین ارقام مختلف پاسخهای متفاوتی نسبت به آن از خود نشان دادند.

واژگان کلیدی: تنش سرما، سیب، دانه گرده، جوانه زنی، رشد لوله گرده

مقدمه

سهم عامل تنش سرما نسبت به سایر عوامل تهدید کننده در زیر بخشهای زراعی و باغی از وزن بسیار بالایی برخوردار است و پهنه وسیعی از حاصلخیزترین مناطق تولیدی کشور ما و قسمت عمده محصولات اقتصادی مهم کشور همه ساله در معرض تهدید تنش سرما قرار دارند. دمای پایین یک عامل عمده ای است که به طور قابل توجهی توزیع جغرافیایی گیاهان را محدود کرده و همچنین بهره وری کشاورزی را از لحاظ کمی و کیفی کاهش میدهد. تولید دانه در نهاندانگان با انتقال دانه گرده زنده به کلاله آغاز میشود و توسط جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله آن، لقاح تخمک و رشد و نمو دانه دنبال میشود. در هر مرحله، شرایط آب و هوایی نامطلوب، بیشینه گامتهای شرکت کننده در فرآیندهای بعدی را تحت تاثیر قرار میدهد. البته حساسیت هر یک از این فرآیندها میتواند با شدت استرس و زمینه ژنتیکی گونه متفاوت باشد (۷). مطالعات نشان داده است که قرارگیری در معرض دمای پایین به طور قابل توجهی میزان جوانه زنی دانه گرده را کاهش داده (۳) و همچنین تغییر در سازمان یابی سلولی را به همراه دارد (۱). دمای پایین جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده را در شبدر سفید و نخود آبگوشتی مهار کرد (۲، ۵). ضمن اینکه دانه های گرده چای در دمای پایین حتی $3\ ^{O}C$ در محیط مصنوعی جوانه زدند دانه های گرده گل سوسن

در چنین دمایی قادر به جوانه زنی نبودند (٤). همچنین وانگ و همکاران (٦) نشان دادند که جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده در گیاه چای تحت تاثیر تنش سرما کاهش یافت.

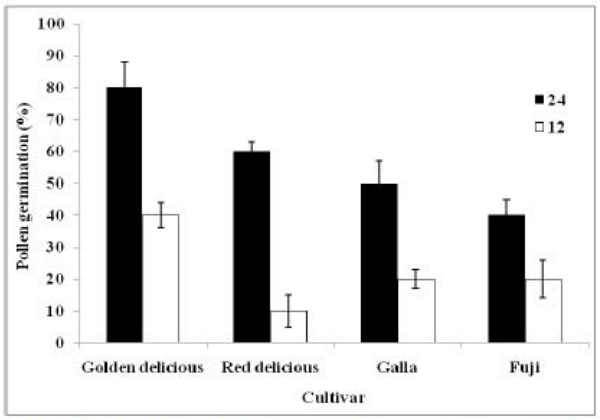
مرحله تولید مثل در گیاهان گلدار اغلب به تنش دمای سرد بسیار حساس است، حتی یک روز یا یک شب سرد گاهی اوقات میتواند منجر به عدم موفقیت در تولید مثل شود. میزان جوانه زنی و رشد لوله گرده یکی از جنبه‌های مهم رشد و نمو گیاهی میباشد که اهمیت زیادی در لقاح و تشکیل میوه دارد. علاوه بر رقم، عوامل دیگری بر درصد جوانه‌زنی و رشد لوله گرده موثر هستند از جمله مهمترین آنها می‌توان به دمای محیط اشاره نمود. دماهای بسیار بالا و پایین اثرات نامطلوبی برجوانه‌زنی و رشد لوله گرده دارند و اثر دما بر حسب گونه و رقم متفاوت است (۱). با توجه به اینکه گزارشات قبلی پتانسیل متفاوت رشد و نمو دانه گرده ارقام مختلف را در برابر تنشهای سرما نشان داده اند در مطالعه حاضر وضعیت جوانه‌زنی و رشد لوله گرده چهار رقم سیب کشت شده در باغ تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد (تهران) شامل Golden (GD) delicious، Red delicious (RD)، Galla (G) و Fuji (F) تحت تنش سرما مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفتند.

مواد و روشها

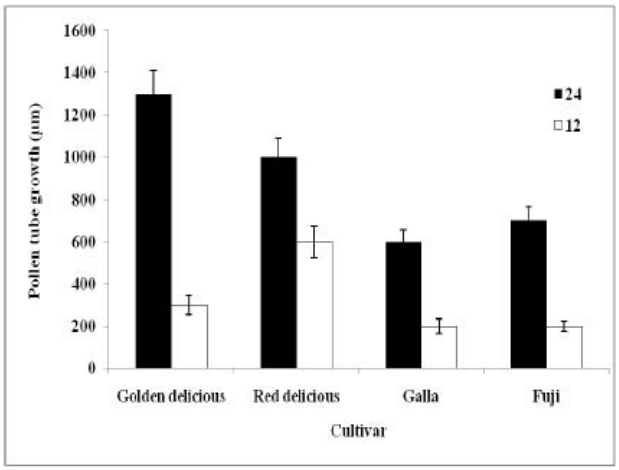
در مطالعه حاضر چهار رقم سیب شامل Golden delicious (GD)، Red delicious (RD)، Galla (G) و Fuji (F) انتخاب شدند. جهت اجرای آزمایش، دانه گرده از بساک‌های گل‌های باز نشده (در پایان مرحله بالونی) جمع آوری شده و در ظروف مخصوص در یخچال نگهداری شدند. برای کشت دانه گرده، از محیط کشت استریل حاوی ۱۵ درصد ساکارز، ۱ درصد آگار و ۵۰ میلی گرم در لیتر اسید بوریک استفاده شد. کشتهای دانه گرده به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه جهت اعمال تنش سرما در انکوباتور در دمای ۱۲ درجه سانتیگراد به مدت ٦ ساعت قرار گرفتند و گروهی دیگر نیز به همین مدت در دمای آزمایشگاه (۰/۵±۲٤ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند. دانه های گرده در شرایط آزمایشگاهی بطور یکنواخت و کم تراکم روی محیط کشت با قلم موی نرم کشت شدند تا از تأثیر اثر توده‌ای(Mass effect) که در آن تعداد زیاد دانه گرده در واحد سطح سبب تحریک جوانه‌زنی و رشد لوله گرده می‌شود، جلوگیری بعمل آورده شود. پس از گذشت زمان مورد نظر، پارامترهای جوانه زنی و رشد لوله گرده زیر میکروسکوپ مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت. جهت توقف رشد لوله دانه های گرده پس از گذشت زمانهای مورد نظر از کلروفرم استفاده شد. این مطالعه بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با ۲ فاکتور (سیب، ٤ رقم و دما، ۲ سطح) در ۳ تکرار (۳ پتری دیش) انجام شد. برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از نرم افزار آماری SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

جدول آنالیز واریانس نشان داد که اثرات تیمار (رقم و دما) و همچنین اثرات متقابل آنها بر صفات مورد مطالعه معنی دار بود (داده ها نشان داده نشده است). نتایج نشان داد که ارقام مورد بررسی در خصوص میزان جوانه زنی در شرایط معمولی متفاوت بوده و بیشترین مقدار جوانه زنی دانه گرده با مقدار ۸۰ درصد در رقم GD و کمترین آن یعنی ٤۰ درصد در رقم F مشاهده شد. در پاسخ به تنش سرما در کلیه ارقام مورد بررسی کاهش در میزان جوانه زنی دانه گرده بصورت قابل توجهی صورت گرفت و ارقام مختلف در این خصوص در ۳ گروه قرار گرفتند. در این شرایط کمترین جوانه زنی دانه گرده در رقم RD به میزان ۱۰ درصد و بیشترین آن به میزان ٤۰ درصد در رقم GD اندازه گیری شد (شکل ۱).



شکل ۱. تغییر در میزان جوانه زنی دانه گرده ارقام سیب تحت اثر تنش سرما. (مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SD ± (انحراف معیار) میباشد).



شکل ۲. تغییر در میزان رشد لوله گرده ارقام سیب تحت اثر تنش سرما. (مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و SD ± (انحراف معیار) میباشد).

ارقام بررسی شده در خصوص رشد لوله گرده نیز در دمای معمولی تفاوت معنی دار نشان دادند. بیشترین میزان رشد لوله گرده با مقدار ۱۳۰۰ میکرومتر مربوط به رقم GD و کمترین آن به مقدار ۶۰۰ میکرومتر مربوط به رقم G بود. تنش سرما رشد لوله گرده را در همه ارقام مورد بررسی نسبت به دمای معمولی کاهش داد. بیشترین و کمترین رشد طولی لوله گرده به ترتیب در رقم RD با مقدار ۶۰۰ میکرومتر و در ارقام G و F با مقدار ۲۰۰ میکرومتر مشاهده شد. در این خصوص رقم GD

تحت این شرایط با مقدار رشد ۳۰۰ میکرومتر بیشترین حساسیت و ارقام RD و G کمترین حساسیت را نشان دادند (شکل ۲).

نتایج بدست آمده در این تحقیق با یافته های محققین مختلف که نشان دادند میزان جوانه زنی و رشد لوله گرده در گیاهان مختلف تحت تاثیر تنش سرما کاهش نشان میدهد هماهنگی نشان میدهد (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶). با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق میتوان گفت که تنش سرما هر دو پارامتر جوانه زنی و رشد لوله گرده را کاهش داد و همچنین ارقام مختلف پاسخهای متفاوتی نسبت به آن از خود نشان دادند.

Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of apple to cold stress

Rezaei Ayatollah[1*], Kordenaeej Alaeddin[1,2], Sharafi Yavar[3], Mahdy Fallah[3]
[1-] *Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran*
[2-] *Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran*
[3-] *Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran*
arezaei@shahed.ac.ir

Abstract
The reproductive phase in flowering plants is often highly sensitive to cold stress, with even a single cold day or night sometimes being fatal to reproductive success. In this study, pollen germination and pollen tube growth in some apple cultivars including Golden delicious (GD), Red delicious (RD), Galla (G) and Fuji (F) under cold stress were studied *in vitro*. Therefore pollen grains were grown uniformly on the solid culture medium. Pollen cultures were then divided into two groups. A group of cultures were incubated at 12 °C for cold stress for 6 h and another group at the same period was placed in the lab temperature (24±0.5 °C). Results showed that studied cultivars were different regarding to pollen germination in normal conditions. A significant reduction in the rate of pollen germination was observed in response to cold stress in all cultivars and in these conditions, the highest and the lowest pollen germination rate of 40% and 10% were measured in GD and RD cultivars, respectively. Investigated varieties regarding to pollen tube growth also showed a significant difference in normal temperature. Pollen tube growth was decreased in all cultivars under cold stress compared to the normal temperature. In this regard under these conditions, GD cultivar and RD and G cultivars showed highest and lowest sensitivity, respectively. According to the results, it can be said that the cold stress decreased both pollen germination and tube growth parameters, as well as the studied varieties showed different responses to the stress.

Keywords: Cold stress, Apple, Pollen, Pollen germination, Pollen tube growth

References

1- Al Mamun E., Cantrill L. C., Overall R. L., Sutton B. G. (2010), Mechanism of low-temperature-induced pollen failure in rice. *Cell Biology International*, 34: 469–476.
2- Jakobsen H. B., Martens H. (1994), Influence of temperature and aging of ovules and pollen on reproductive success in *Trifolium repens* L. *Annals of Botany*, 74:493-501.
3- Lee J. Y., Lee D. H. (2003), Use of serial analysis of gene expression technology to reveal changes in gene expression in Arabidopsis pollen undergoing cold stress. *Plant Physiology*, 132: 517–529.
4- Sekiya J., Yamashita K., Nakagawa S., Shibata Y., Hatanaka A. (1988), Phospholipids of tea pollen. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52: 243–247.
5- Srinivasan A., Saxena N. P., Johansen C. (1999), Cold tolerance during early reproductive growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.): genetic variation in gamete development and function. *Field Crops Research*, 60:209-222.

6- Wang Y. H., Li X. C., Zhu-Ge Q., Jiang X., Wang W. D., Fang W. P., Chen X., Li X. H. (2012), Nitric oxide participates in cold-inhibited *Camellia sinensis* pollen germination and tube growth partly via cGMP *in vitro*. *Plose One*, 7(12): e52436.
7- Weaver M. L, Ng H., Burke D. W., Silbernagel M. J., Foster K., Time H. (1984), Effect of soil moisture tension on pod retention and seed yield of beans. *Horticultural Science*, 19:567–569.