اثر برخی فاکتورهای شیمیایی و محیطی بر رویش و رشد لولهٔ گرده در گل اطلسی (*Petunia hybrida* Juss.)

مریم ایزدی خالق آبادی، فرخنده رضانژاد* و خسرو منوچهری کلانتری

کرمان، دانشگاه شهید باهنر ، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۸٦/۱۰/٤ تاریخ پذیرش: ۸٦/۷/۱٦

چکیده

دانهٔ گرده یا گامتوفیت نر در گیاهان بوسیله اثر متقابل بافتهای اسپوروفیتی (لایه های مختلف بساک بویژه لایهٔ تغذیه‌ای) و گامتوفیتی (دانهٔ گرده در حال نمو) تمایز می یابد. رویش و رشد دانهٔ گرده یک مرحله بحرانی در باروری گیاهان است، بدین دلیل یک محیط مساعد برای رویش و رشد لازم است که این محیط در شرایط *In vivo* روی کلاله مساعد و سازگار فراهم می-شود. بطور معمول، مواد موثر بورون، پتاسیم، کلسیم وساکارز می‌باشند. عوامل مختلف دیگر مانند هورمونها (تنظیم کننده‌های رشد)، فلاونوئیدها و شرایط محیطی نیز روی رویش و رشد دانهٔ گرده موثرند. بدلیل رشد سریع دانه های گرده در شرایط *In vitro* و اینکه می‌توان در این شرایط، بررسیهای متعدد از جمله تهیه محیط کشت مناسب و اثر فاکتورهای مختلف را بر رویش و رشد دانهٔ گرده انجام داد، بطور معمول در آزمایشات تجربی، کشت در شیشه انجام می‌شود. در این تحقیق اثر برخی فاکتورهای مختلف مانند سن دانهٔ گرده، زمان نمونه برداری، یونهای متعدد، ،سرما، غلظتهای مختلف ساکارز و کوئرستین روی میزان رویش و رشد دانهٔ گرده بررسی شد. نتایج سن دانهٔ گرده نشان داد که دانه های گرده جمع‌آوری شده از غنچه های در حال باز شدن در ساعت ۹-۸ صبح بهترین رویش و رشد را دارند. نتایج نشان می دهد کلسیم نیترات (۰/۰۲ درصد)، پتاسیم نیترات (۰/۰۲ درصد)، منیزیم سولفات (۰/۰۲ درصد)، اسید بوریک (۰/۰٤ درصد) و آگار (۰/۵ درصد)، مورد استفاده در اغلب محیطهای کشت پایه‌ای دانهٔ گرده، در اینجا نیز مورد نیاز است. بعلاوه غلظت مناسب ساکارز، ۱۵ درصد می باشد. تیمار سرما بعنوان یک فاکتور مهم در تحریک رویش و رشد دانهٔ گردهٔ اطلسی مؤثر بوده بطوریکه تحت تیمار یک روزه در دمای ۵ درجه سانتی گراد، رویش و رشد به ۹۰ درصد یا بیشتر افزایش یافت و لوله های گرده رشد عادی و قابل توجه دارد و زمان رویش کاهش می یابد. در نمونه های بدون تیمار سرما درصد رویش بین ۱۰ تا ۲۰ درصد بود و پس از رویش دانهٔ گرده خروج محتویات با تشکیل ساختارهای لوله مانند بسیار نازک و پیچ خورده همراه بود. در برخی نمونه‌ها، انتهای لولهٔگرده حباب مانند می‌شد. کوئرستین با غلظت ۰/۰۳ درصد تا حدودی میزان رویش و رشد را افزایش داد اما این افزایش معنی دار نبود.

واژه های کلیدی:.*Petunia hybrida* Juss، سرما، کوئرستین، رویش دانهٔ گرده، رشد دانهٔ گرده

* نویسنده مسئول، تلفن تماس:۳۲۲۲۰۳۲-۰۳٤۱ ، پست الکترونیک: frezanejad@mail.uk.ac.ir

مقدمه

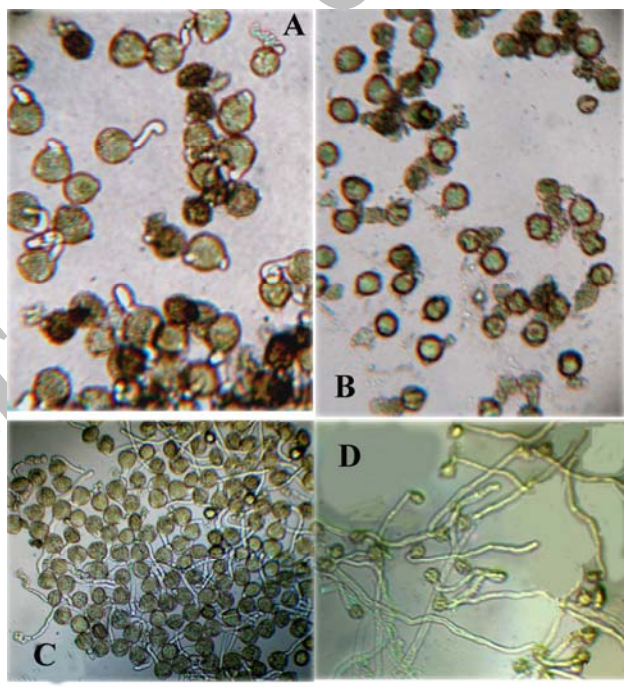
دانه های گرده گامتوفیتهای منحصر بفرد گیاهان است که در باروی و تولید نسل دخالت می‌نماید. آنها درون بساک گل از تقسیم و تمایز بافت هاگزا ایجاد می‌شوند. تغذیهٔ دانه‌های گرده در حال نمو بوسیلهٔ لایه تاپی و در برخی گیاهان به کمک تاپی و سایر لایه‌های دیواره‌ای می‌باشد. تشکیل لولهٔ گرده یک مدل بی‌نظیر برای مطالعهٔ رشد ونمو می‌باشد (۳۳،۲۰)، بنابراین رویش ورشد دانهٔ گرده، یک موضوع مهم تحقیق در زمینه مورفولوژی، فیزیولوژی، بیوتکنولوژی، اکولوژی و زیست شناسی ملکولی است (۲٦). شرایط محیطی بویژه دما بر رویش و رشد دانهٔ گرده

Archive of SID

www.SID.ir

اثر می‌گذارد (۳۰،۵). سرعت رشد لولهٔ گرده در گونه های مختلف و نیز در شرایط در زیوه (*In vivo*) و در شیشه (*In vitro*) با هم متفاوت است (۱۳). در شرایط در شیشه، نیازهای دمایی دانهٔ گردهٔ گونه های مختلف تا حدودی متفاوت است و در آنها اغلب گسترهٔ دمایی مناسب بین ۳۰- ۱۵ درجه سانتی گراد می‌باشد. بطور معمول محیط کشت پایه‌ای حاوی بور، کلسیم ومنبع کربن مثل ساکارز، لاکتوز یا رافانوز می‌باشد (۱۱،۲) و برای مثال محیط کشت Brewbaker و Kwack در ۸٦ گونهٔ گیاهی مناسب بوده است. گزارشات متعددی وجود دارد که ترکیبات فنلی از جمله فلاونوئیدها سبب تحریک رویش و رشد لولهٔگرده می‌شوند، برای مثال در *papaver* محتوای فلاونوئید بر نمو اجزا گل اثر دارد (۱)، در توتون تجمع فلاونوئیدها باعث تحریک رویش و رشد دانه های گرده در جهش یافته های عقیم می‌شود (۳۸).

طول لولهٔ گرده در شرایط در شیشه بمیزانی که در طبیعت برای ایجاد باروری لازم می‌باشد نمی‌رسد و معمولاً کوتاه-تر است (۳۱). هنگامی که شرایط کشت در شیشه مناسب و بهینه باشد طول لوله ها به حدود ۳۰ تا ٤۰ درصد طول لوله ها در شرایط در زیوه می‌رسد و برخی اوقات نیز ساختارهای غیر عادی ایجاد می کنند. با وجود این بدلیل سهولت انجام مطالعه در شرایط در شیشه و نیز مشکلات تکنیکی کشت در زیوه، مطالعات رویش دانهٔ گرده در محیط کشت در شیشه، یکی از روشهایی است که بسیار استفاده می‌شود. در این مطالعه به بررسی اثر فاکتورهای مختلف محیطی بر رویش و رشد دانهٔ گردهٔ اطلسی پرداخته شد تا محیط کشت مناسب برای مطالعهٔ رویش و رشد دانهٔ گردهٔ در شرایط درشیشه فراهم شود، همچنین بتوان با استفاده از داده‌های بدست آمده در شرایط درشیشه برای مطالعات رویش و رشد گرده در شرایط درزیوه و تحریک باروری (تولید دانه و میوه) استفاده نمود.



.شکل ۱. میزان رویش و رشد لولهٔ گرده در نمونه‌های بدون پیش تیمار سرما (A ، پس از ۰/۵ ساعت و B، پس از ۳ ساعت) و نمونه‌های تحت پیش تیمار سرما (C ، پس از ۰/۵ ساعت و D، پس از ۳ ساعت).

Archive of SID
www.SID.ir

مواد و روشها

دانـه هـای گـردهٔ اطلسـی (*Petunia hybrida* Juss.) در ساعت‌های مختلف قبل از ظهر (۱۲–۸) از گلهای در حال باز شدن جمع آوری و رویش و رشد آنها مطالعه و بررسی شد. محیط کشت پایه ای استفاده شده، محیط اصلاح شـدهٔ Brewbaker و Kwack (۱۹٦۳) با کمـی تغییـر اسـت (۲). این محیط شامل ۱۵ گرم ساکارز، ۰/۰۲ گرم پتاسیم نیترات، ۰/۰۲ گرم کلسیم نیترات، ۰/۰۲ گرم منیزیم سولفات، ۰/۰٤ گرم بوریک اسید و ۰/۵گرم آگار حل شـده در ۱۰۰ میلـی لیتر آب مقطر می باشد.۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت آماده شده در ظروف پتری با قطر ۵ سانتیمتر ریخته، و از پیش تیمـار سرما بمنظور تحریک رویش و رشد لولهٔ گرده استفاده شد. برای این منظور دانه‌های گرده جمع آوری شده در زمانهای مختلف (۵، ۱۰ و ۲٤ ساعت) در دمای ۵ درجهٔ سانتی گراد قرار گرفت. بعلاوه، اثر دماهای مختلـف (۳۰–۵ درجـه بـا فاصلهٔ زمانی ۵ درجهٔ سانتی گراد) و نیز غلظتهای مختلـف کوئرستین (۰،۰۳/۰۱ /۰،۰۹/۰ درصـد) بـر رویـش و رشـد لولهٔ گرده مطالعه شد. نتایج حاصل مطالعهٔ درصد رویش با بررسی در صد رویـش یـا جوانـه‌زنـی ۱۰۰ دانـهٔ گـرده، و بررسی طول لولهٔ دانهٔ گرده با انـدازه‌گیـری طـول ۲۰ لولـهٔ گرده بوسیله میکرومتر، در هر ظرف پتری مـی باشـد. هـر تجربه ۵ بار تکرار و نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یـک عـاملی و برنامـهٔ SPSS و آزمـون ANOVA در سـطح P<۰/۰۵ بررسـی شـد. از نمونـه‌هـای مناسـب بوسـیلهٔ میکروسکوپ نوری زایس عکس‌برداری شد.

نتایج

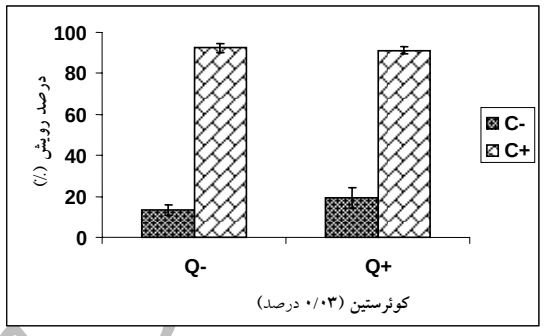
نتایج رویش و رشد دانهٔ گرده نشان می دهـد کـه بهتـرین زمان جمع آوری دانهٔ گـرده‌ای در سـاعت ۹–۸ مـی‌باشـد صبح یعنی زمانی که تازه گل باز شده است. در این مرحلـه بطور معمول شکوفایی بسـاک انجـام نشـده یـا بسـاکها در شروع شکوفایی می‌باشـند. اسـتفاده از غلظتهـای مختلـف محیط کشت نشان می دهد نیترات کلسیم(۰/۰۲ درصـد)، نیتـرات پتاسـیم(۰/۰۲ درصـد)، سـولفات منیـزیم(۰/۰۲ درصد)، اسید بوریک(۰/۰۵ درصـد) و آگـار(۰/۵ درصـد) بعنوان ترکیبات لازم برای رویش و رشد دانهٔ گرده مؤثرند. بعلاوه غلظت مناسب سـاکارز، ۱۵ درصـد اسـت. مطالعـهٔ پیش تیمار سرما نیز نشان می دهد پـیش تیمـار ۲٤ سـاعتهٔ سرما (دمای ۵ درجهٔ سانتی گراد) بعنوان یک فـاکتور مهـم در تحریک رویش و رشد دانهٔ گرده مـؤثر اسـت بطوریکـه تحت تیمار یک روزهٔ سرما، رویش به بـیش از ۹۰ درصـد افـزایش یافتـه، و زمـان رویـش نیـز کـاهش مـی یابـد، درصورتیکه در نمونه های بدون تیمار سرما درصد رویـش بـین ۱۰ تـا ۲۰ درصـد اسـت (شـکلA-D۱ و شـکل۲). همچنین لوله های گردهٔ قرار گرفته در سرما نیز رشد عادی و قابل توجه دارند (۲٦۰ میکرومتر) اما در نمونه های بدون تیمار سرما میزان رشد کاهش یافته (۱٦۰ میکرومتر) و پس از مقداری رشد، خـروج محتویـات دانـهٔ گـرده و تشـکیل ساختارهای لوله مانند بسیار نازک و پـیچ خـورده مشـاهده شده و در برخی نمونه‌ها، انتهای لولـهٔ گـرده حبـاب ماننـد می‌شود (شکلA-D۱ و شکل۳). مطالعهٔ غلظتهای مختلـف کوئرستین نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین غلظتهای مختلف استفاده شـده وجـود نـدارد اگرچـه غلظـت ۰/۰۳ درصد نسبت به غلظتهای دیگر تا حدودی سـبب افـزایش رویش و رشد می شود(اطلاعات مربوطه نشـان داده نشـده است). استفاده از این غلظت (۰/۰۳ درصد) در مقایسـه بـا محیط بدون کوئرستین (رویش حـدود ۱۵ درصـد و رشـد حدود ۱٦۰ میکرومتر) در محـیط کشـت نشـان مـی دهـد رویش و رشد گرده بترتیب به ۲۰ درصد و ۲۰۰ میکرومتـر افزایش می یابد که این افزایش در سطح P<۰/۰۵ معنـی‌دار نمی باشد (شکلهای ۲ و ۳).

مطالعهٔ اثر دماهای مختلف بر جوانه زنی و رشد لولهٔ گـرده نشان نیز می دهد کـه درصـد رویـش در دمـای ۲۵ درجـهٔ سانتی گراد بمیزان حد اکثر (۹۰ درصد) می‌رسد. در دمـای پایین‌تر (۲۰ درجهٔ سانتی گـراد) اگـر چـه درصـد رویـش مقداری پایین‌تر است (۸۰ درصد) اما این کاهش معنـی دار

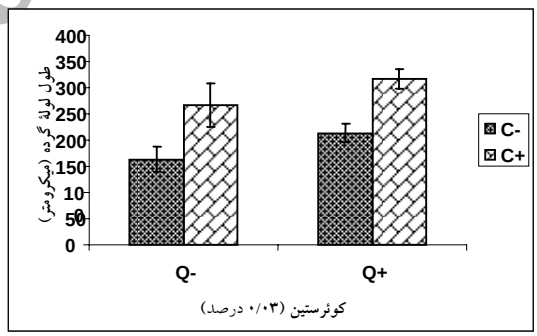
Archive of SID

www.SID.ir

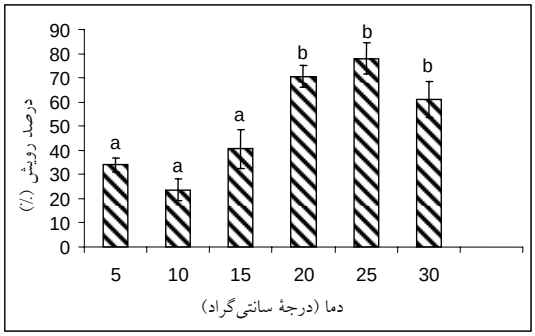
نمی‌باشد، همچنین در ۳۰ درجهٔ سانتی گراد نیز با وجود کاهش میزان رویش، این کاهش معنی دار($P<0/05$) نیست (شکلهای ٤ و ٥). همچنان که شکلهای ٤ و ٦ نشان می-دهد بالاترین میزان طول لولهٔ گرده در ۲۵ درجهٔ سانتی گراد است و دماهای پایین تر و بالاتر سبب کاهش معنی دار در طول لولهٔ گرده می‌شوند ($P<0/05$).



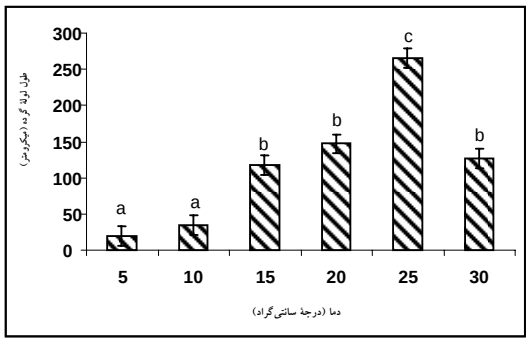
شکل ۲. میزان رویش دانهٔ گرده در نمونه‌های بدون پیش تیمار سرما (C^-) و نمونه‌های تحت پیش تیمار سرما (C^+) و بر هم کنش آنها با کوئرستین ($P<0/05$).



شکل ۳. میزان رشد لولهٔگرده در نمونه‌های بدون پیش تیمار سرما (C^-) و نمونه‌های تحت پیش تیمار سرما (C^+) و بر هم کنش آنها با کوئرستین ($P<0/05$).



شکل ۵. میزان رویش دانهٔ گرده در دماهای مختلف (۳۰-۵ با فواصل ۵ درجهٔ سانتی گراد)، دماهای بهینه برای رویش ۲۰ و ۲۵ درجهٔ سانتی گراد می‌باشد که در این دو دما اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود اگر چه در دمای ۲۵ درجه درصد رویش تا حدودی بیشتر است، حروف و مقیاس روی نمودارها معنی دار بودن ($P<0/05$) را مشخص می‌نماید.



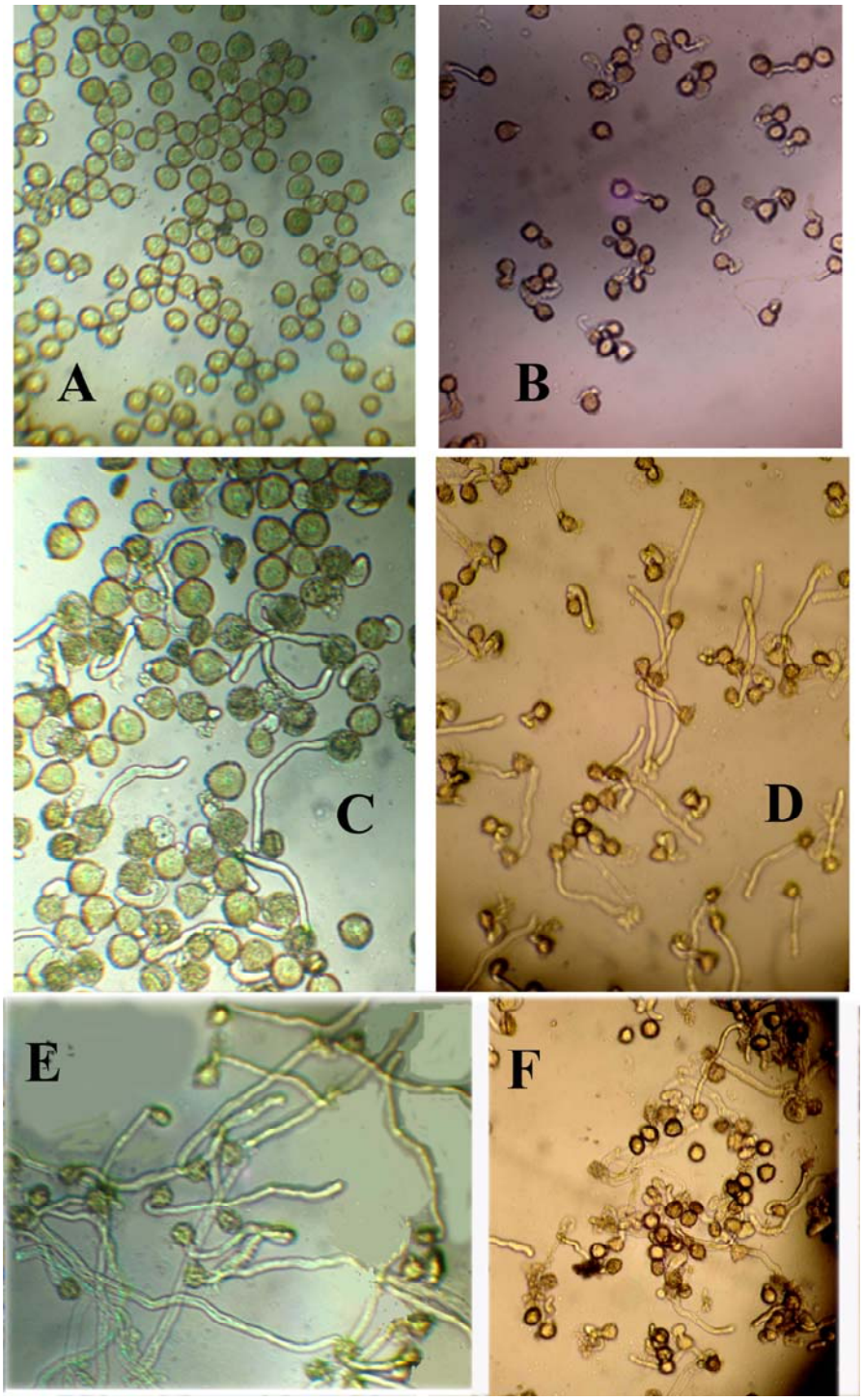
شکل ٦. میزان طول لولهٔگرده در دماهای مختلف (۳۰-۵ با فواصل ۵ درجهٔ سانتی گراد)، حروف و مقیاس روی نمودارها معنی دار بودن ($P<0/05$)، را مشخص می‌نماید.

بحث و نتیجه گیری

محیط کشت استفاده شده در این مطالعه، محیط کشت پایه‌ای اصلاح شدهٔ Brewbaker و Kwack (۱۹٦۳) می باشد. که شامل بوریک اسید، پتاسیم نیترات، کلسیم نیترات، منیزیم سولفات همراه با غلظت مناسبی از ساکارز وآگار می‌باشد. کلسیم برای رشد لولهٔ گرده ضروری می باشد و حداقل در بعضی گونه‌ها تأثیر شیمیوتروپیسم مثبت دارد. زیادی تجمع کلسیم از رشد لوله جلوگیری می کند. لوله-های گرده حاوی مقداری یون کلسیم هستند که بمیزان زیادی در سلول جابه جا می‌شود و به قسمت نوک لوله منتقل می‌شود. این کلسیم، کلسیم داخل ماتریکس سیتوپلاسمی و کلسیم متصل به غشاء می باشد (۳۹). مطالعات نشان می‌دهد که رشد ضربانی لولهٔ گرده در سوسن وابسته به نوسان غلظت کلسیم است (۱۲ و ۲۷). مکانیسم ملکولی و فیزیولوژیکی تنظیم رویش و رشد لولهٔگرده قبلا مطالعه شده است (۱۰و ۲۰، ۴۰،۳۳). برخی گزارشات نشان داده است که رویش و رشد دانهٔگرده توسط انتقال یون های معدنی Ca^{2+} و K^+ از غشاء پلاسمایی دانهٔ گرده و لولهٔ گرده تنظیم می‌شود و ورود و

Archive of SID
www.SID.ir

خروج این دو یون به همدیگر وابسته است (٦، ۲۹ و ۱۰). بورون نیز یک عنصر مهم در رشد لولهٔگرده می‌باشـد. ایـن عنصر بر جذب قند به عنوان منبع تغذیه ای اثر می‌گذارد و جذب قند و اکسیژن را افزایش می‌دهد (۲۵).



شکل ٤. میزان رویش و رشد لولهٔ گرده در دماهای مختلف (A-F بترتیب دمای ۳۰-۵ با فواصل ۵ درجهٔ سانتی گراد است).

www.SID.ir

نتایج بررسی حاضر نشان می دهد تیمار سرما بعنوان یک فاکتور مهم در تحریک رویش و رشد دانهٔ گرده مؤثر است بطوریکه تیمار یک روزهٔ گرده ها در دمای ۵ درجه سانتی گراد، سبب تحریک رویش و رشد لولهٔ گرده می شود، همچنین لوله های گرده رشد عادی و قابل توجه دارند. در برخی گیاهان مانند Arabidopsis، پس از قرارگرفتن در معرض دمای پایین (بطوریکه سبب یخ زدن نشود) مقاومت به یخ زدن در آنها افزایش می‌یابد (۳٤). فرایندهای تطابق نشان داده است که سازش به سرما با برخی تغییرات شیمیایی شامل توقف رشد، کاهش محتوای آب (۱۷)، کاهش ناپایدار سطح آبسیزیک اسید (٤)، تغییر در ترکیبات لیپیدی غشاء (۱۸)، تجمع ترکیبات مربوط به تنظیم پتانسیل اسمزی مثل پرولین، بتائین، پلی‌اولها، قندهای محلول و افزایش سطح آنتی اکسیدانها همراه است (۲٤). بعضی مراحل رشدگیاه مثل رشد گیاهچه‌ها نسبت به بقیه مراحل حساس‌تر است (۱۹)، ولی مرحله بلوغ دانهٔ گرده حساس‌ترین مرحله می‌باشد (۲۸). بنابراین با توجه به نقش تحریکی سرما در تولید آنتی اکسیدانها (ترکیبات فلاونوئیدی در گروه آنتی اکسیدانها قرار دارند) می‌توان نتیجه گرفت که سرما از طریق تحریک تولید فلاونولها، کاهش آبسزیک اسید و افزایش ترکیبات قندی و ...، سبب تحریک رویش و رشد لولهٔ گرده می‌شود.

در تحقیق حاضر کوئرستین تا حدودی میزان رویش و رشد دانه‌های گرده را افزایش داد اما این افزایش معنی‌دار نمی باشد. مطالعات نشان می‌دهد فلاونوئیدهای بساک و مادگی در رویش و رشد لولهٔ گرده دخالت می‌نمایند (۳۲، ۲۳ و ۳۷). یک موتان دارای نقص در تولید فلاونوئید گل اطلسی نر سبب عقیم شدن آن می شود زیرا گردهٔ آن نمی-تواند رویش نماید. اضافه کردن کامفرول به دانهٔ گردهٔ این نوع موتان، موجب رویش و رشد سریع دانهٔ گرده می‌شود (۹ و ۳۸). این موضوع در Arabidopsis واقعیت ندارد و فقدان فلاونوئید، باروی و رویش را تحت تأثیر قرار نمی-دهد (۳ و ۳٦). بنابراین احتمال می‌دهیم نوع گونهٔ گیاهی، نوع فلاونولها (کوئرستین، کامفرول، میرستین و ...) و برهم کنش عوامل محرک (بعنوان مثال بر هم کنش ترکیبات فلاونوئیدی با سرما در این مطالعه که نقش تحریکی آن در بالا ذکر شد) بر اثر گذاری فلاونولها مؤثر می باشد.

نتایج حاصل از بررسی اثر دما بر رویش دانهٔ گرده نشان می دهد گسترهٔ دمایی لازم برای رویش دانهٔ گرده ۳۰-۲۰ درجهٔ سانتی گراد است اگر چه در دمای ۳۰ درجه میزان بیرون ریختگی و بی‌نظمی لوله‌های گرده بالا می باشد. همچنین نتایج نشان می دهد دمای بهینه برای رشد لولهٔ گرده، ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد می‌باشد که این دما برای روبش نیز بهینه است. دما یکی از مهمترین فاکتورهای محیطی است که بر نمو و تولید مثل گیاهان مؤثر می‌باشد (۱۵). همچنین رویش و رشد لولهٔ گرده نیز تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد. دمای مورد نیاز برای رویش و رشد دانهٔ گرده نیز در گیاهان مختلف با هم فرق دارد، بعنوان مثال در گل سرخ دماهای بالا (۲۳ و ۳۰) رویش و رشد دانهٔ گرده را افزایش می‌دهد ولی دماهای پایین (۱٤ و ۱٦) رویش و رشد را کاهش می‌دهد(۷). در گلابی با افزایش دما بین ۵ تا ۲۵ درجهٔ سانتی گراد رشد لولهٔ گرده افزایش می‌یابد (۲۱، ۳۹). نتایج Koti و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد گلهای سویا به دمای بالا خیلی حساسند و میزان رویش دانهٔ گرده و نیز طول لوله در دمای بالا کاهش می‌یابد(۱۵). اثر دمای زیاد بر کاهش رویش دانهٔ گرده و طول لولهٔ گرده در چندین گونهٔ زراعی نیز مطالعه شده است (۱٤، ۱٦ و ۳۵). این احتمال وجود دارد که دمای بالا روی سازمان یابی DNA، ساختار پروتئینها و آنزیمها اثر گذاشته و از طریق ایجاد آسیب به این مولکولها بویژه در مرحلهٔ رشد لولهٔگرده که متابولیزم شدیدتر است، سبب کاهش رویش و رشد لولهٔ گرده می‌شود. بعلاوه در دمای پایین بدلیل کاهش فعالیت آنزیمها و نیز متابولیسم دانهٔ گرده، میزان رویش و رشد کم می باشد. بنابریان در نتیجه گیری کلی میتوان ذکر نمود که علاوه بر منبع کربن و یونهای مورد نیاز، پیش تیمار یک

Archive of SID

www.SID.ir

روزهٔ سرما و نیز دمای ۲۵ درجهٔ سانتی گراد از عوامل مهم القاء رویش و رشد لولهٔ گرده می باشند.

منابع

1- Beliaeva R.G., Evdokimova L.I., (2004). Variability of flavonol contents during floral morphogenesis in Papaver somniferum L.Ontogenez, 35(1):16-22.

2- Brewbaker J.L. and Kowack B., (1963). The essential role of Ca^{2+} in pollen germination and pollen tube growth. Ame. J. of Bot, 50:859-865.

3- Burbulis E., Iacobucci M., Shirley B.W., (1996). A null mutation in the first enzyme of flavonoid biosynthesis does not affect male fertility in Arabidopsis. Plant Cell, 8: 1013–1025.

4- Chen H.H., Brenner M.L, Li P.H., (1983). Involvement of abscisic acid in potato cold acclimation. Plant Physiol, 71: 362–365.

5- Delph L.F., Weinig C., Sullivan K., (1998). Why fast-growing pollen tubes give rise to vigorous progeny: *The Test of a New Mechanism*, Biological Sciences, 265(1399): 935-939.

6- Fan L.M., Wang Y.F, Wang H. and Wu W.H., (2001). Arabidopsis pollen Germination in vitro and characterization of the inward potassium currents in Arabidopsis pollen grain Protoplasts. Journal of Experimental of Botany, 52(361): 1603-1614.

7- Frova C., Taramino G., Binelli G., (1989). Heat-shock proteins during pollen development in maize. Developmental genetics:10:324-332.

8- Gudin S., Arene L., Pellegrino C., (1991). Influence of temperature and hygrometry on rose pollen germination. Adv. Hort. Science, 5:96-98.

9- Guyon V.N., Astwood J.D., Garner E.C., Dunker A.K., Taylor L.P., (2000). Isolation and characterization of cDNAs expressed inthe early tages of flavonol-induced pollen germination in petunia. Plant Phy, 23: 699–710.

10- Hepler P.K., (1996). Tip-localized calcium entry fluctuates during pollen tube Growth. Developmental Biology, 174:160–173.

11- Heslop-Harrison J., (1987). Pollen germination and tube growth. International Review of cytology, 1: 1-78.

12- Holdaway-Clarke T. L., Feijo J. A., Hackett G. R., Kunkel J. G., and Hepler P. K., (1997). Pollen Tube Growth and the Intracellular Cytosolic Calcium Gradient Oscillate in Phase while Extracellular Calcium Influx Is Delayed. Plant Cell, 9(11): 1999–2010.

13- John J.B., Velten J., and Melvin J.O., (2004). Analysis of in vitro cotton pollen germination. Agron. j, 96:359-368.

14- Kakani V.G., Prasad P.V.V., Craufurd P.Q., Wheeler T.R., (2002). Response of in vitro pollen germination and pollen tube growth of

15- Koti S., Reddy K. R., Kakani V. G., Zhao D. and Reddy V. R, (2005). Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (Glycine max L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. *Journal of Experimental Botany*, 56(412): 725–736.

16- Lee J. and 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 Physiol*, 132(2): 517–529.

17- Levitt J., (1980). Responses of plants to environmental stresses. *Journal of Ecology*, 70(2): 696-697.

18- Lynch D.V., Steponkus P.L., (1987). Plasma membrane lipid alterations associated with cold acclimation of winter rye seedlings (*Secale cereale* L. cv Puma). *Plant Physiol*, 83: 761–767.

19- Lyons J.M., (1973). Chilling injury in plants. *Annu Rev Plant Physiol* 24: 445–466.

20- Mascarenhas J.P., (1993). Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. *The Plant Cell*, 5:1303-1314.

21- Mascarenhas J.P. and Altshuler M., (1983). Heat shock proteins and effects of heat shock in plants. *Plant Mol. Biol*. 1: 103–115.

22- Mellenthin W.M. and Wang C.Y., (1974). Friction discoloration of ‘d’Anjou’ pear in relation to fruit size, maturity, storage and polyphenoloxidase. activities. *HortScience*, 9:592-593.

23- Mo Y., Nagel C., Taylor L.P., (1992). Biochemical complementation of chalcone synthase mutants defines a role for flavonols in functional pollen. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 89: 7213–7217.

24- Nomura K., Heino P., Tapio Palva E., (1991). Separate signal pathways regulate the expression of a low-temperature-induced gene in

Archive of SID

www.SID.ir

Arabidopsis Heynh. *Plant Mol Biol*, 16: 1061–1071.

25- O'Kelley J.C., (1957). Boron Effects on Growth, Oxygen Uptake and Sugar Absorption by Germinating Pollen. *American Journal of Botany*, 44(3): 239-244.

26- Ottavio E, Mulahy D, Sari Goria M, Mulahy G.B., (1992). Angiosperm pollen and ovules. *Springer-Verlag New York INC*.

27- Pierson E. S., Miller D. D., Callaham D. A., van Aken J., Hackett G. and Helper P.K., (1995). Tip- localized calcium entry fluctuates during pollen tube growth. *Developmental biology*, 174: 160-173.

28- Sataka T, Koike S, (1983) Sterility caused by cooling treatment at the flowering stage in rice plants. *Jpn J Crop Sci*, 52: 207–213.

29- Steer M. W. and Steer J. M., (1989). Pollen tube tip growth. New Phytologist, 111(3): 323-358.

30- Stephenson A.G., Johannsson M.H., Delph L.F., (1997). How environmental factors affect pollen performance: ecological and evolutionary perspectives, *Ecology*, 78 (6): 1632-1639.

31- Stone L. M., Seaton K. A., Kuo J. and McComb J. A., (2004). Fast pollen tube growth in *Conospermum* species. *Annals of Botany*, 93: 369-378.

32- Taylor L.P. and Jorgensen R. (1992). Conditional male fertility in chalcone synthase-deficien *Petunia*. *Journal of heredity*, 83:11-17.

33- Taylor L.P., Hepler P. K., (1997). Pollen germination and tube growth.*Ann Rev of Plant Physiol and Plant Mol Biol*, 48: 461-491.

34- Thomashow M.F., (1998). Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiol* 118: 1–8.

35- Wang M.L., Hsu C.M., Chang L.C., Wang C.S., Su T.H., John Huang Y.J., Jiang L. and Jauh G.Y., (2004). Gene expression profiles of cold-stored and fresh pollen to investigate pollen germination and growth. *plant and cell Physiology*. 45(10):1519-1528.

36- Woo H.H., Jeong B.R. and Hawes M.C., (2005). Flavonoids: from cell cycle regulation to biotechnology. *Biotechnology Letters*, 27: 365–374.

37- Xu P., Vogt T., Taylor L. P., (1997). Uptake and metabolism of flavonols during in vitro germination of *petunia hybrida* (L.) *pollen. Planta*, 202:257-265.

38- Ylstra B., Touraev A., Benito Moreno R.M., Stöger E., van Tunen A.J., Vicente O., Mol J.N.M. and eberle-Bors E., (1992). Flavonoids stimulate development, germination, and tube growth of tobacco pollen. *Plant Physiol*, 10: 92-907.

39- Yoona G.M., Peter E. Dowdb, Simon Gilroyc and Andrew G. McCubbina,(2006). Calcium-Dependent protein kinase isoforms in *Petunia* have distinct Functions in Pollen Tube Growth, Including Regulating Polarity. *The Plant Cell*, 18:867-878.

40- Zhao J., Yang. H.Y., Lord E.M., (2004). Calcium levels increase in the lily stylar transmitting tract after pollination. *Sex Plant Reprod*, 16:259–263.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of some environmental and chemical factors on germination and pollen tube growth in *petunia hybrida*

Izadi Khaleghabadi M., Rezanejad F., and Monochehri Klantri Kh.

Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahounar University, Kerman, I.R.of IRAN,

Abstract

Pollen germination and pollen tube growth are essential processes that ensure the reproduction of flowering plants. Pollen grains need a suitable culture medium for germination and growth that in natural condition is prepared by stigma surface. Essential factors for this phenomenon including Ca, B, K, and sucrose. Additional factors such as growth regulators, flavonoids and environmental conditions are affective on the pollen germination and pollen tube growth (Usually experimental tests on the growth media of pollen perform as in Vitro, because pollen tube growth is rapid in this condition). Alternatively the possibility of different studies on preparation of cultures media as well as the study of the effect of some factors on pollen germination and pollen tube growth are provided. In this study, different culture media prepared and the effects of factors such as pollen age, different ions, quercetin, variable sucrose concentrations, cold and on pollen germination and and pollen tube growth in *petunia hybrida*. were investigated. The pollen grains collected from opening buds at 8-9 AM showed the highest rate of pollen germination and pollen tube growth. The growth basic medium containing 0.02 g calcium nitrate [$Ca(NO_3)_2$], 0.05 g boric acid (H_3BO_3), 0.02 g potassium nitrate and 0.4 g agar in 100 mL of distilled water was a suitable medium but this medium needed the other essential factors such as follows: sucrose that its optimum concentration was 15%. Cold treatment was the most important factor so that in the pollen grains pretreated with cold for 24 h at 10°C, pollen germination increased significantly compared to unexposed to cold ones (over 90% comparison to 10-20%). The pollen tubes of those witch were pretreated with cold showed a usual and regulated growth. In addition, the rate of growth was higher. The pollen tubes of control samples were bulbed and disrupted and most pollen cytosolic materials released out. Quercetin increased the rate of growth but this increasing was not significant.

Key words: *petunia hybrida, cold, Quercetin, pollen germination, pollen tube growth.*

Archive of SID

www.SID.ir