Archive of SID

# اثر تنش گرما بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌گرده در گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.) در شرایط درون شیشه‌ای

**فاطمه دانشمند[۱و۲]* و خسرو منوچهری کلانتری[۱]**

[۱] کرمان. دانشگاه شهید باهنر. دانشکده علوم. گروه زیست شناسی

[۲] یزد، دانشگاه پیام نور تفت. گروه زیست شناسی.

تاریخ دریافت: ۸٦/۹/۳ تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۲۹

## چکیده

دما یکی از عوامل محیطی تأثیرگذار بر مراحل مختلف تشکیل میوه و دانه می‌باشد. دراین مطالعه اثر تنش گرما بر مراحل جوانه‌زنی دانهٔ گرده و رشد لوله گرده گیاه فلفل *Capsicum annuum* L.var. Malali در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرارگرفت. گیاهان پس از ورود به فاز زایشی به دو گروه تقسیم شدند. گروه شاهد در تیمار دمایی ۳ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۳ ± ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و گروه تیمار در دمای ۳ ± ۳۸ درجه سانتی‌گراد در روز و ۳ ± ۲۸ درجه سانتی‌گراد در شب قرار گرفتند. دانه گرده حاصل از گلهای شاهد و گلهای تحت تنش گرما در محیط کشت که حاوی ۱۰ ساکارز درصد، ۰/۱ میلی مول اسید بوریک، ۱ میلی مول کلرید کلسیم و ۱ درصد آگار بود کشت داده شد و در تیمارهای دمایی از ۰ تا ٤۰ درجه سانتی‌گراد با فاصله‌های دمایی ۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و درصد جوانه‌زنی ومیزان رشد لوله‌های گرده طی ساعات اول، دوم و سوم بعد از کشت محاسبه شد. درصد جوانه‌زنی دانه گرده جمع‌آوری شده ازگلهای شاهد درتیمار دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد ۸۰ درصد بود که به کمتر از ۵ درصد در تیمارهای دمایی بالاتر از ۳۵ و کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد رسید .جوانه‌زنی دانه گرده گلهای تحت تیمار گرما در دمای ۲۵-۲۰ از حدود ۱۵ درصد به کمتر از ۵ درصد در تیمارهای دمایی بالاتر از ۳۰ و کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد رسید. رشد لوله گرده گلهای شاهد از ۰/۵ میلی متر در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد به کمتر از ۰/۰۰۵ میلی متر در تیمارهای دمایی بالاتر از ۳۵ و کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد رسید. رشد لوله گرده گلهای تحت تیمار گرما نیز از ۰/۰۷ میلی متر در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد به حدود صفر در تیمارهای دمایی بالاتر از ۳۵ و کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد رسید. بررسی برشهای میکروتومی بساک گلهای تحت تنش و شاهد نیز نشان دهنده افزایش چشمگیر تعداد دانه‌های گرده غیر عادی و توخالی می‌باشد. نتایج حاصل از این بررسی حاکی از حساسیت بالای اندام زایشی نر گیاه فلفل نسبت به تنش گرما می‌باشد.

**واژه های کلیدی:** تنش گرما، جوانه‌زنی دانه گرده، رشد لوله‌گرده، گیاه فلفل.

*نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۳۲۲۲۰۳۲-۰۳٤۱، پست الکترونیک: f.daneshmand@yahoo.com

## مقدمه

دما یکی از فاکتورهای محیطی تأثیرگذار بر مراحل مختلف رشد گیاه می‌باشد. مرحله تولید مثل جنسی در گیاهان درمقایسه با مراحل رشد رویشی، به دمای بالا بسیار حساس می‌باشد و اندامهای تولید مثلی در برابر افزایش دما قبل و یا در حین مراحل گلدهی بسیار آسیب پذیر هستند(۲۲). گزارش شده است که تشکیل میوه در فلفل (۹)، لوبیا (۱۸ و ۱۹)، ذرت (۱۲)، پنبه ( ۲۳)، نخود (۲)، بادام زمینی (۲۱)، سویا (۱۰) و گوجه فرنگی (۱۸، ۲٦ و ۲۷) به دما بسیار حساس بوده و افزایش دما باعث کاهش



www.SID.ir

Archive of SID

تشکیل میوه و دانه وافزایش ریزش گل در این گیاهان می گردد.

با توجه به مسئله تولید گازهای گلخانه‌ای و پیش بینی افزایش ۱/۵ تا ۱۱ درجه سانتی‌گرادی دمای سطح زمین تا سال ۲۱۰۰ میلادی به نظر می‌رسد که فرآیند تشکیل میوه و دانه و در نتیجه تولید محصول به شدت تحت تأثیر قرارگیرد (۲۲). بنابراین استفاده از گیاهانی که کمتر به دماهای بالا و پایین در مراحل تولید مثلی حساس هستند و فرآیندهای نمو دانه‌گرده، جوانه‌زنی دانه‌گرده، رشد لوله گرده، لقاح، نمو جنین و نهایتاً نمو دانه در آنها کمتر تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت می‌باشد از طرفی با وجود حساسیت بالای مراحل رشد زایشی به گرما، گزارش شده است که در بین مراحل رشد زایشی نیز برخی از مراحل حساس‌تر می‌باشند(۲۷).

گزارشهای بسیاری نشان می‌دهد مراحل میوز سلولهای مادر گرده و بلوغ میکروسپورها، جوانه‌زنی و رشد لوله گرده جزء مراحل بسیار حساس به دما بوده و از نظر دمایی مرحله محدوده کننده تشکیل میوه و دانه محسوب می‌شوند (٤، ٥، ٩، ۲۷ و ۳۰). علت به وجود آمدن دانه‌های گرده غیرعادی، پوک یا چروکیده و با اندازه‌های مختلف در گیاه گوجه‌فرنگی را به دلیل تنش گرما می‌باشد (۲۷). تولید دانه‌گرده غیرطبیعی در گیاهان دیگر از قبیل لوبیا (۱۹،۱۱ و ۲۹) سویا (١٦) وسورگوم (۲۰) نیز مشاهده شده است. علت عدم تولید دانه و یا تشکیل دانه کمتر در این گیاهان طی تنش گرما، کاهش توان زیستی دانه‌های گرده بیان شده است.

دانه گرده‌ای که از بساک رها می‌شود به عنوان یک واحد عملکردی در نظر گرفته می‌شود و در گیاهان مختلف در مطالعات متعددی بررسی تأثیر دمای بالا بر جوانه زنی و رشد لوله گرده به صورت درون شیشه‌ای انجام گرفته است (٦، ٨، ١٣، ١٤ و ٢٥).

مطالعه و درک حساسیت فرآیندهای فیزیولوژیک دخیل در تشکیل میوه در هنگام تنش گرما و یافتن ژنوتیپهای مقاوم به گرما می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی گیاهان مفید واقع شود. با توجه به حساسیت گیاه فلفل نسبت به تنش گرما و کاهش شدید محصول در آن به علت ریزش گل، در این پژوهش برای یافتن برخی از دلایل کاهش میوه طی تنش گرما، مراحل رشد و جوانه زنی دانه گرده و رشد لوله گرده فلفل در محیط درون شیشه‌ای با تیمارهای دمایی مختلف مورد آزمایش قرار گرفت و با استفاده از برشهای میکروتومی تهیه شده از بساک مورفولوژی دانه‌های گرده در تنش گرما بررسی شد.

## مواد و روشها

بذر فلفل مورد استفاده در این تحقیق با نام *Capsicum annuum* L.var.Malali از مرکز تحقیقات بذر و نهال کرج تهیه شد. بذرها در گلدانهای حاوی ماسه بادی، رس و گیاخاک با نسبت ۲:۱:۱ کاشته و به مدت ۲ ماه در شرایط گلخانه‌ای در دمای ۳±۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۳±۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و تحت فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری (با استفاده از نور خورشید و نور مصنوعی با استفاده از لامپهای فلورسانس و نور زرد) و هفته‌ای دو بار آبیاری شدند.

**نحوه اعمال تیمار:** بعد از گذشت حدود ۲ ماه و ورود گیاهان به فاز زایشی، گلدانهای حاوی گیاه به دو دسته تقسیم شدند. دسته اول تحت تیمار دمای بالا در دمای ۳±۳۸ درجه سانتی‌گراد در روز و ۳±۲۸ درجه سانتی‌گراد در شب و تحت فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. دسته دوم به عنوان شاهد در دمای ۳±۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۳±۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب و تحت فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند و پس از دو هفته بررسیهای مورد نظر روی آنها انجام گرفت.


www.SID.ir

Archive of SID

**بررسی توان زیستی و جوانه‌زنی دانه‌گرده در محیط کشت(درون شیشه):** محیط کشت مورد استفاده برای کشت دانه‌گرده حاوی ۱۰ درصد ساکارز، ۰/۱ میلی مول اسید بوریک و ۱ میلی مول کلرید کلسیم بود که از غلظت ۱ درصد آگار برای جامد کردن آن استفاده شد (۱۷). محیط کشت تهیه شده درون ظروف پتری استریل به طور یکنواخت ریخته شد و بعد از جامد شدن مورد استفاده قرار گرفتند.

از گیاهان شاهد و تیمار گلهای قسمتهای بالایی گیاه برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت. برای کشت دانه‌های گرده حدود ۲۰ عدد گل در حالت نیم‌باز تا کاملاً باز ( زاویه گل با محور گل ٤٥ تا ۹۰ درجه) از گیاهان شاهد و تیمار شده انتخاب ودانه‌های گرده آنها به طور جداگانه داخل یک شیشه ساعت با ضربات آرام یک میله فلزی تکانده شد و سپس دانه‌های گرده روی محیط کشت قرار داده شدند. این ظروف پتری در انکوباتور در تیمارهای دمایی ۵-۰، ۱۰-۵، ۱۵-۱۰، ۲۰-۱۵، ۲۵-۲۰ ( به عنوان شاهد)،۳۰-۲۵، ۳۵-۳۰ و٤۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و برای هر تیمار دمایی ۳ تکرار در نظر گرفته شد.

درصد جوانه‌زنی دانه گرده گیاهان شاهد و تیمار در این تیمارهای دمایی بعد از ۲ ساعت با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل زایس با بزرگنمایی ۱۰x محاسبه گردید. برای این محاسبه در هر ظرف پتری ۵ میدان دید به طور تصادفی انتخاب و در هر میدان دید درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. به منظور بررسی میزان رشد لوله‌گرده در هر ظرف پتری طول ۲۰ عدد لوله‌گرده در زمانهای ۲،۱و۳ ساعت بعد از کشت با استفاده از آکولر دارای گراتیکول اندازه گیری گردید و برای تهیه عکس از نمونه‌ها از میکروسکوپ نوری مدل المپیوس دارای دوربین $AH_2$ ( ساخت کشور ژاپن) استفاده شد.

**تهیه برشهای میکروتومی از بساک:** نمونه‌های گل پس از برداشت مراحل زیر را طی نمودند: تثبیت در فیکساتور فرمالین، اتانول، اسید استیک (F.A.A) ، شستشو در آب جاری ، آبگیری از نمونه‌ها با درجات اتانولی رو به‌افزایش ، جانشین کردن اتانول موجود در یاخته‌ها با زایلن با استفاده از درصدهای زایلن رو به افزایش ، جانشین کردن پارافین به جای زایلن با استفاده از درصدهای رو به افزایش پارافین و در نهایت نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شدند.

تهیه برشهای عرضی از نمونه‌های قالب‌گیری شده به وسیله میکروتوم چرخان انجام شد و برشها پس از پارافین‌زدایی، با هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس برشهای میکروتومی تهیه شده با میکروسکوپ نوری مدل زایس (ساخت کشور آلمان) مورد بررسی قرار گرفت و با میکروسکوپ نوری مدل المپیوس دارای دوربین $AH_2$ از نمونه‌ها عکس گرفته شد.

**بررسیهای آماری:** همه تحلیلهای آماری طبق طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و برای ارزیابی اثر تیمار بر پارامترهای اندازه گیری شده، داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS تحت آنالیز واریانس قرار گرفته و اختلاف میانگینها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excell استفاده گردید.

## نتایج

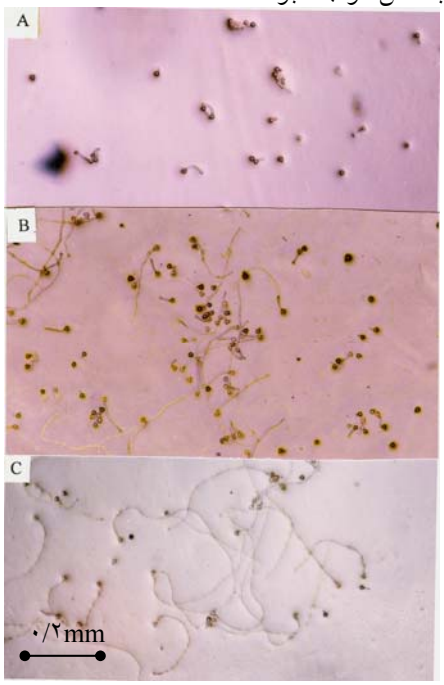
بررسی نمودار حاصل از توان زیستی و جوانه‌زنی دانه‌های گرده گلهای شاهد و تیمار در محیط کشت نشان داد که اختلاف معنی‌دار در تیمار دمای ۳۵-۳۰ و٤۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد با حالت شاهد آن (دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد) وجود دارد ( نمودار ۱). به علاوه در دماهای ۵-۰ و ۱۰-۵ درجه سانتی‌گراد نیز اختلاف کاملاً معنی‌داری بین


www.SID.ir

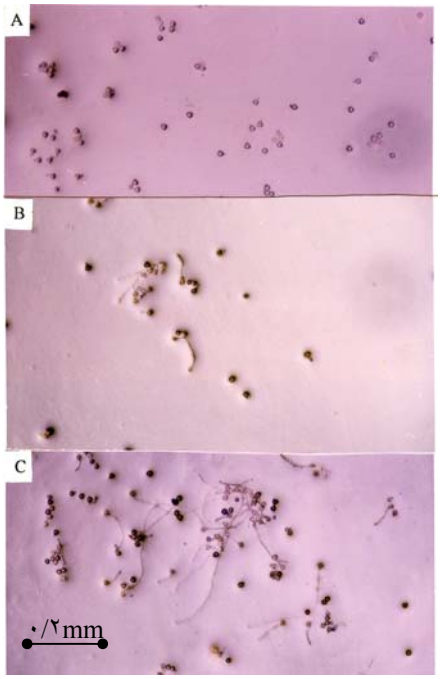
Archive of SID

درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده آنها با شاهد مشاهده شد( نمودار ۱).

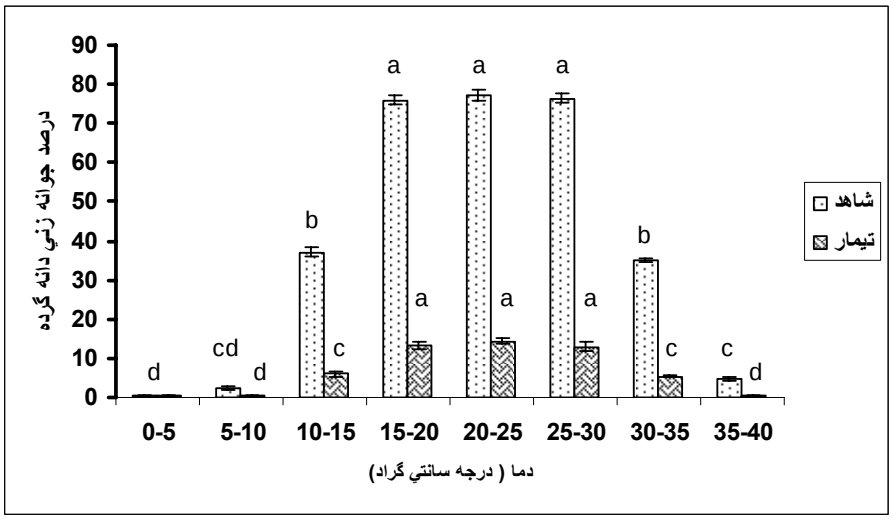
مقایسه میزان جوانه‌زنی دانه‌های گرده گلهای شاهد و تیمار (نمودار ۱) نیز نشان می‌دهد، درصد زیست پذیری و جوانه زنی دانه‌های گرده‌ای که در طی نمو خود تحت تنش گرما بوده‌اند بسیار کمتر از دانه‌های گرده‌ای است که در طی نمو خود با تنش مواجه نبوده‌اند.




شکل۱- میزان رشد لوله‌های گرده فلفل در محیط کشت در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد (دانه‌های گرده حاصل از گلهای شاهد) به ترتیب از A تا C ۱، ۲و۳ ساعت بعد از کشت (بزرگ‌نمایی ۱۰ x).



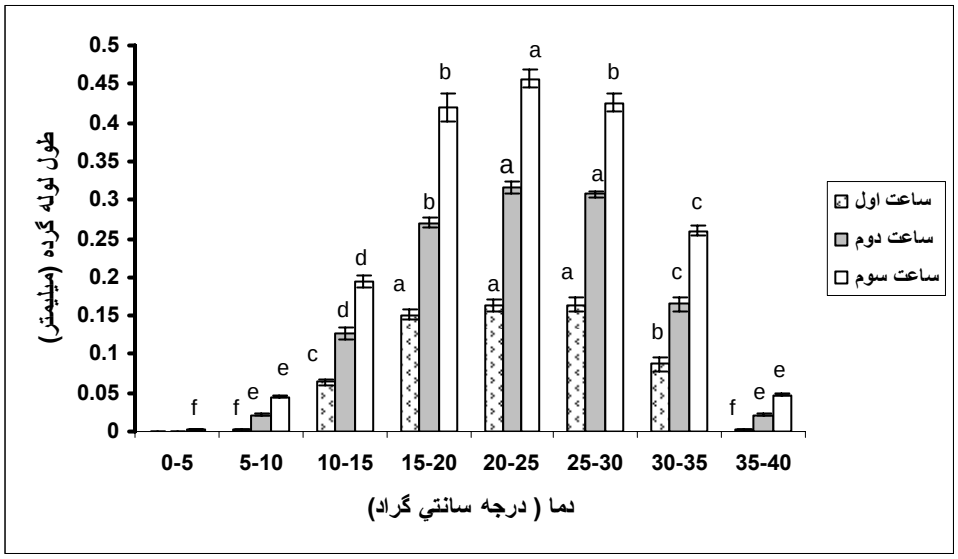

شکل۲- میزان رشد لوله‌های گرده فلفل در محیط کشت در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد (دانه‌های گرده حاصل از گلهای تحت تیمار گرما) به ترتیب از A تا C ۱، ۲ و ۳ ساعت بعد از کشت (بزرگ‌نمایی ۱۰ x).



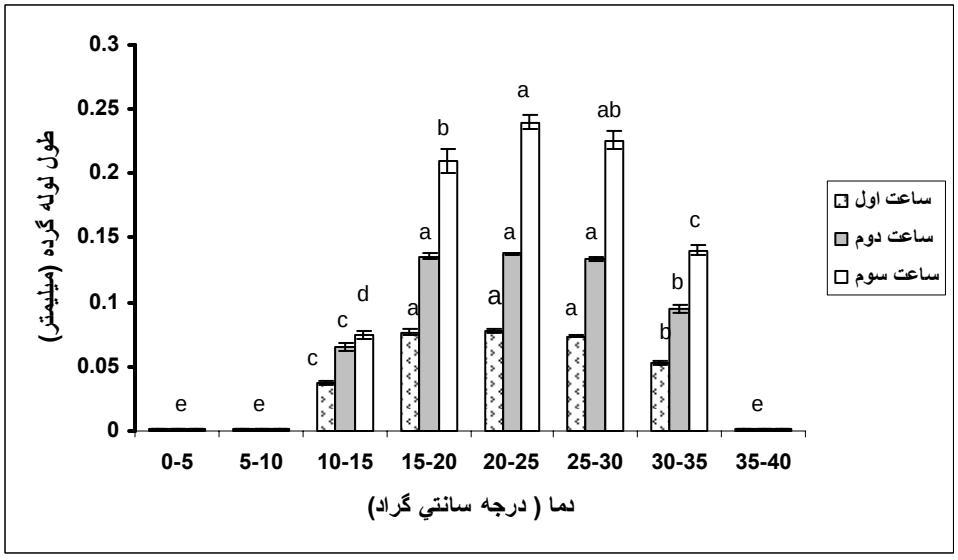

نمودار ۱- درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده گلهای شاهد و تیمار در محیط کشت در تیمارهای دمایی مختلف. هر ستون نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد و ستونهای با رنگهای یکسان با یکدیگر قابل مقایسه می‌باشند (آزمون دانکن و سطح اطمینان ۹۵ درصد).


www.SID.ir

Archive of SID




نمودار ۲- میزان رشد لوله گرده گلهای شاهد در محیط کشت طی ساعات اول، دوم و سوم در تیمارهای دمایی مختلف. هر ستون نشان‌دهنده میانگین ± انحراف می‌باشد و ستونهای با رنگهای یکسان با یکدیگر قابل مقایسه می‌باشند (آزمون دانکن و سطح اطمینان ۹۵ درصد).




نمودار ۳- میزان رشد لوله گرده گلهای تحت تیمار گرما در محیط کشت طی ساعات اول، دوم و سوم در تیمارهای دمایی مختلف. هر ستون نشان‌دهنده میانگین ± انحراف معیار می‌باشد و ستونهای با رنگهای یکسان با یکدیگر قابل مقایسه می‌باشند (آزمون دانکن و سطح اطمینان ۹۵ درصد).

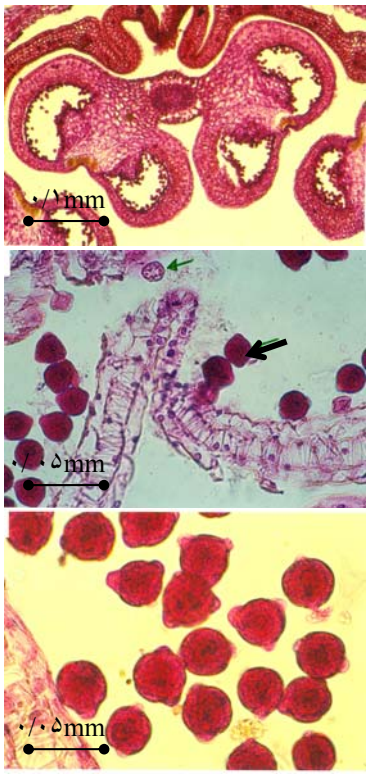
بررسی نمودارهای حاصل از میزان رشد طولی لوله‌های گرده طی ساعت اول، دوم و سوم( نمودار۲و۳) بعد از کشت نشان داد که میزان رشد لوله‌های گرده در تنشهای دمایی ٤٠-۳۵ و ۳۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با دمای شاهد ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد بسیار کاهش می‌یابد. علاوه بر این دماهای ۱۰-۵ و ۵-۰ درجه سانتی‌گراد نیز باعث کاهش معنی‌دار رشد لوله‌های گرده در مقایسه با دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد شد.

با توجه به نمودار های ۲ و ۳ و مقایسه میزان رشد لوله‌های گرده بین گلهای شاهد و تیمار مشاهده می‌شود که در دانه‌های گرده‌ای که در طی نمو خود تحت تنش گرما بوده‌اند میزان رشد لوله گرده بسیار کمتر از دانه‌های گرده‌ای می‌باشد که در طی نمو خود تنش گرما ندیده‌اند.


www.SID.ir

Archive of SID

شکلهای ۱و۲ نیز نشان دهندهٔ میزان رشد لوله‌های گرده در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد ( شاهد) طی ساعات اول، دوم و سوم در گیاهان شاهد و تیمار می‌باشد.



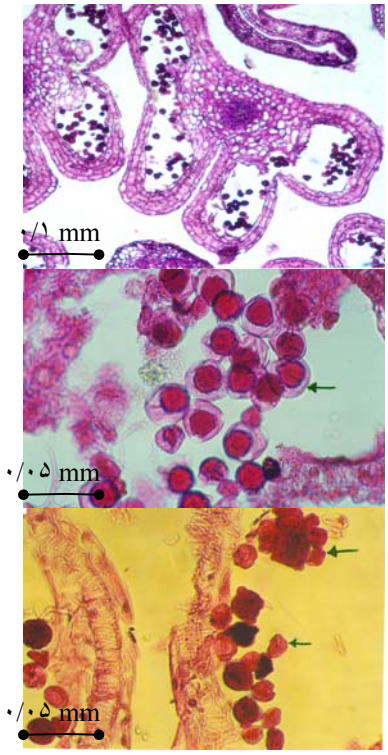

شکل ۳- دانه‌های گرده طبیعی در برشهای عرضی تهیه شده از بساک گلهای شاهد ( به ترتیب از بالا به پایین بزرگ‌نمایی ۲۰X, ٤۰X, ٤۰X). فلش سیاه نشان دهنده دانه های گرده زایا و فلش سبز نشان دهنده دانه های گرده نازا می باشد.

بررسی تصاویر حاصل از برشهای میکروتومی بساکها (شکلهای ۳ و ٤) نیز نشان دهندهٔ وجود دانه‌های گرده توخالی، چروکیده، و غیرعادی و با اندازه‌های متفاوت در گلهای گیاهان تحت تنش گرما در مقایسه با گلهای گیاهان شاهد می‌باشد.

## بحث

نتایج به دست آمده در این تحقیق که کاهش توان زیستی و قدرت جوانه‌زنی دانه‌های گرده و کاهش رشد لوله‌های گرده در طی تنش گرما را نشان می‌دهد ( نمودار ۱ تا۳) با نتایج Abdul-Baki , Stommel(۱۹۹۵) مطابقت دارد (۱).

این محققین گزارش نموده‌اند که قرار دادن دانه‌های گرده رقمهای حساس به گرمای گیاه گوجه فرنگی در دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت باعث کاهش چشمگیر درصد جوانه‌زنی و رشد لوله‌های گرده می‌گردد. این محققین گرده‌افشانی ناکارآمد و غیرکافی را علت اصلی کاهش تشکیل میوه در دماهای بالا ذکر نموده‌اند.




شکل ٤- دانه‌های گرده غیر طبیعی پوک و نازا در برشهای عرضی تهیه شده از بساک گلهای تحت تیمار گرما (به ترتیب ازبالا به پایین بزرگ‌نمایی ۲۰X, ٤۰X, ٤۰X). فلشها نشان دهنده دانه های گرده نازا می باشد.

نتایج مشابهی با نتایج حاصل از این تحقیق نیز توسط Rudich و همکاران (۱۹۷۷) به‌دست آمده است (۲٤). در این بررسی طی تنش گرمایی میزان جوانه‌زنی دانه‌های گرده در رقمهای مقاوم به گرمای گیاه گوجه‌فرنگی به حدود ۵۰ درصد رسید. در حالی که جوانه‌زنی رقمهای حساس به گرما بسیار کم و در حد ۵-۰ درصد بود. نتایج تحقیق آنها نشان داد که دمای بالا حتی اگر در یک دوره کوتاه چند ساعته هم باشد باعث از دست رفتن توان زیستی دانه‌های گرده می‌گردد(۲٤).


www.SID.ir

Archive of SID

بررسیهای دیگر روی گیاه لوبیا (۱۹)، پنبه (۱۳) و سورگوم (۲۰) نیز همگی حاکی از کاهش توان زیستی و رشد لوله‌های گرده طی تنش گرما در محیط درون شیشه‌ای می‌باشد. بررسی دیگر روی ارقام مختلف گیاه گوجه فرنگی نشان دهندهٔ این مطلب است که بین جوانه زنی دانه گرده، طول لوله گرده و تشکیل میوه همبستگی مثبت وجود دارد. این بررسیها نشان دهندهٔ حساسیت بالاتر گامتوفیت نر به گرما نسبت به گامتوفیت ماده بوده است (۲۵ و ۳۱). نتایج به‌دست آمده دراین بررسی و کاهش رشد لوله‌های گرده در دماهای ۱۰-۵ و ۵-۰ درجه سانتی‌گراد با نتایج Charles, Harris (۱۹۷۲) و Shaked و همکاران (۲۰۰٤) مطابقت دارد. در بررسی این محققین دماهای پایین نیز موجب کاهش تعداد میوه گردید و علت این پدیده نیز عدم توان زیستی و جوانه زنی دانه گرده و عدم تشکیل لوله گرده گزارش شده است (۷ و ۲۸).

وجود دانه‌های گرده پوک و غیرعادی با لایه‌های اگزین متفاوت در طی تنش گرما در گیاه گوجه‌فرنگی، لوبیا و سویا نیز گزارش شده است (۱٦، ۱۹ و ۲۹). بررسیها علت پوک بودن و یا چروکیده شدن دانه‌های گرده را مهار رسیدن مواد غذایی از لایه مغذی(tapetum) به میکروسپورهای در حال نمو گزارش کرده‌اند. به علاوه ناهمگونی در ابعاد گرده‌ها را نیز مربوط به تحت تأثیر قرار گرفتن مراحل تلوفاز I, II و تقسیم سیتوپلاسمی در هنگام تقسیم میتوز سلولهای مادر گرده و یا به دلیل عدم تشکیل دوکها در مرحله تقسیم میوزی ذکر نموده که باعث ایجاد میکروسپورهایی با ابعاد گوناگون می‌شود (۳، ۹، ۲۷ و ۲۹).

همچنین گزارش شده است که یکی از دلائل کاهش جوانه‌زنی گرده و رشد لوله‌گرده در دمای بالا یا پایین تغییر میزان نشاسته، ساکارز و قندهای احیا کننده‌ایی نظیر گلوکز و فروکتوز در دانه‌های گرده و تغییر فعالیت آنزیمهای اینورتاز، فروکتوزکیناز و هگزوزکیناز موجود در دانه‌های گرده می‌باشد که منابع انرژی لازم برا ی جوانه‌زنی و رشد لوله‌گرده محسوب می‌شوند (۱۵ و ۲۸).

با توجه به نتایج حاصل از بررسیهای انجام شده در این پژوهش به نظر می‌رسد که در گیاه فلفل گامتوفیت نر و مراحل نمو و تشکیل دانه گرده به دما بسیار حساس می‌باشد و می‌تواند بیان کننده یکی از دلائل کاهش محصول طی تنش گرما در گیاه فلفل باشد. بنابراین شاید بتوان با گرده افشانی مصنوعی از کاهش محصول در این گیاه جلوگیری نمود.

## منابع


1- Abdul – Baki, A. A & Stommel, J. R. 1995. Pollen viability and fruit set of tomato genotypes under optimum and high temperature regimes. Hort Science. 30(1): 115-117.

2- Ahmed; F.E &.Hall; A.E. 1993. Heat injury during early floral bud development in cowpea. Crop Science. 33:764-767.

3- Ahmed, F. E. Hall, A.E. & Demoson; D.A. 1992. Heat injury during floral development in cowpea *(Vinga unguiculata*, Fabaceae). American Journal of Botany. 79: 784-791.

4- Aloni, B. Peet, M.M. Pharr, M.& Karni, L. 2001. The effect of high temperature and high atmospheric $Co_2$ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in Relation to its germination. Physiolagia Plantarum. 112: 505-512.

5- Aloni, B. Pashkar, T. &Karni, L. 1991. Partitioning of $^{14}C$ sucrose and acid invertase activity in reproductive organs of pepper plants in relation to their abscission under heat stress. Annals of Botany. 67: 371-377.

6- Burke, J.J. Velten; J. & Oliver, M.J. 2004. *In vitro* analysis of cotton pollen germination. Agronomy Journal. 96: 359-368.

7- Charles; W.B. & R.E. Harris, R.E. 1972. Tomato fruit – set at high and low temperatures. Canadian Journal of Plant Science. 52: 497-506.

8- Craufurd, P. Q. Prasad, P.V.V. Kakani, V.G. Wheeler, T.R. & Nigam, S.N. 2003. Heat



www.SID.ir

Archive of SID

tolerance in groundnut. Field Crops Research. 80: 63-77.

9- Erickson, A. N. & Markhart; A.H. 2002. Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to elevated temperature. Plant, Cell and Environment. 25: 123-130.

10- Ferris, R. Wheeler, T.R., Hadley, P. & Ellis, R.H. 1998. Recovery of photosynthesis after environmental stress in soybean grown under elevated $Co_2$. Crop Science.38: 948-955.

11- Gross, Y. & Kigel; J. 1994. Differential sensitivity to high temperature of stages in the reproductive development of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Field Crops Research. 36:201-222..

12- Herrevo, M. P. & Johnson, R.R. 1980. High temperature stress and pollen viability of maize. Crop Science. 20: 796-800.

13- Kakani, V. G. Reddy, K.R. Koti, S. Wallace, T.P. Prasad, P.V.V. Reddy, V.R & Zhao, D. 2005. Differences in *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of cotton cultivars in response to high temperature. Annals of Botany. 96: 59-67.

14- Kakani, V. Prasad, P.V.V. Craufurd, P.Q. & Wheeler, T.R. 2002. Response of *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to temperature. Plant, Cell and Environment. 35: 1651-1661.

15- Karni, L. & Aloni; B. 2002. Fructokinsae and hexokinase from pollen grains of bell pepper (*Capsicum annuum* L.): possible role in pollen germination under condition of high temperature and $Co_2$ enrichment. Annals of Botany. 90: 607-612.

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

17- Mercado, J. A. Fernandez–monoz, R. & Quesada, M.A. 1994. *In vitro* germination of pepper pollen in liquid medium. Scientia Horticulturae. 57: 273-281.

18- Peet, M. M. Sato, S. & Gardner, R.G. 1998. Comparing heat stress effects on male fertile and male sterile tomato. Plant, Cell and Environment. 22: 225-231.

19- Porch; T. G. & Jahn; M. 2001. Effects of high temperature stress on microsporogenesis in heat–sensitive and heat tolerant genotypes of *Phaseolus vulgaris*. Plant, Cell and Environment. 24:723-731.

20- Prasad, P. V. V. Boote, K.J. & Hert Well Allen jr, L. 2006. Adverse high temperature effects on pollen viability, seed set, seed yield and harvest index of grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L). Meench) are more severe at elevated carbon dioxide due to higher tissue temperatures. Agricultural and Forest Metrology. 139: 237 – 251.

21- Prasad, P. V. V. Craufurd, P.Q. & Summer field, R.J. 1999. Fruit number in relation to pollen production and viability in groundnut exposed to short episode of heat stress. Annals of Botany. 84: 381-386.

22- Reddy, K. R. & Kakani, V.G. 2007. Screening *Capsicum* species of different origins for high temperature tolerance by *in vitro* pollen germination and pollen tube length. Scientia Horticalturae. 112: 130-135.

23- Reddy, K. R. Hodges, H.F & Reddy, V.R. 1992. Temperature effects on cotton fruit retention. Agronomy Journal. 84:26-30.

24- Rudich, J. Zamski, E. & Regev, Y. 1977. Genotypic variation for sensitivity to high temperature in the tomato: pollination and fruit set. Botany. Gaz. 138, 4:448-452.

25- Sato, S. Kamigama, M. Iwata, T. Makita, N. Furukawa, H. & Ikeda, H. 2006. Moderate Increase of mean daily temperature adverse effects fruit set of *Lycopersicon esculentum* by disrupting specific physiological processes in male reproductive development. Annals of Botany. 97: 731- 738.

26-. Sato, S. Peet, M. M. & Gardner; R. G. 2004. Altered flower retention and developmental patterns in nine tomato cultivars under elevated temperatures. Scientia Horticulturae. 101:95-101.

27- Sato, S. Peet, M.M. & Thomas, J.F. 2002. Determining critical pre– and post–anthesis periods and physiological processes in *Lycopersicon esculentum* Mill. exposed to moderately elevated temperature. Journal of Experimental Botany. 53: 371: 1187-1195.

28- Shaked, R. Rosenfeld, K. & Pressman, E. 2004. The effect of low night temperatures on carbohydrates metabolism in developing pollen grain of pepper in relation to their number and functioning. Scientia Horticalturae. 102:29-36.



www.SID.ir

Archive of SID

29- Suzaki, K. & Takeda, H. 2001. Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. Sexual Plant Reproduction. 13: 293-299.

30- Usman, J. S. Mamat, A. S. Mohd, H.S.Z.S. Aishah, H. S. & Anuar, A. R. 1999. The non impairment of pollination and fertilization in the abscission of chilli (*Capsicum annuum* L. var Kulai) flowers Scientia Horticultarae. 79: 1-11.

31- Weaver, M. L. 1989. Screening tomato for high temperature tolerance through pollen viability tests. Hort Science. 24: 3: 493-495.

# The effect of heat stress on *in-vitro* pollen grain germination and pollen tube growth in *Capsicum annuum L.*

**Daneshmand F.[1,2]. and Kalantari Kh. M.[1]**

**[1]Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN**

**[2]Biology Dept., Payame Noor University, Taft, I.R. of IRAN**

## Abstract

Temperature is one of the main factors which affect fruit and seed formation. In this study the effect of heat stress on in-vitro pollen germination and pollen tube growth in *capsicum annuum* L.var. Malali were investigated. After onset of reproductive phase the plants were divided into two groups; control group were held into temperature regime treatment (25±3ºC day/ 18±3ºC night) and treatment group were held into temperature regime treatment (38±3ºC day/ 28±3ºC night)Pollen grains were collected from both control and those which were under heat stress were cultured on culture medium containing 10% sucrose , 0.1 mM boric acid, 1mM calcium chloride and 1% agar. The plates contained pollen grains were then transferred to growth chamber with different temperature from o to 40°C with 5°C interval. Pollen germination percentage and the rate of pollen tube growth during 1, 2 and 3 hours after treatment were calculated. Pollen germination in control flowers was 80% in 20-25°C and reached to lower than 5% in temperature treatments of >35°C and <5°C. Pollen germination in flowers from treatment group was about 15% in 20-25°C and reached to lower than 5% in temperature treatments of >30°C and <10°C. Pollen tube growth in control plants decreased from 0.5 mm in 20-25°C to lower than 0.005 mm in temperature treatments of >35°C and <10°C. Pollen tube growth in treatment group decreased from 0.07 mm in 20-25°C 0 mm in temperature treatments of >35°C and <10°C. Cross sections of anther for both control and heat stressed samples showed a significant increase in grains which were irregular, infertile and hollow in heat treated plants. The results from this research indicated that male reproduction organs in pepper plants are highly sensitive to heat stress.

**Keywords:** heat stress, pollen germination, pollen tube growth, *Capsicum annuum*



www.SID.ir