

اثر غلظت‌های مختلف چند ماده شیمیایی بر جوانه‌زنی درون شیشه‌ای دانه‌های گرده‌ی

سه رقم نخل خرماي نر استان خوزستان

سید محمد حسن مرتضوی^۱، کاظم ارزانی و احمد معینی^۲

چکیده

نخل خرما (*Phoenix dactylifera L.*) گیاهی است دو پایه که برای دستیابی به عملکرد بالا نیاز به گرده‌افشانی مصنوعی دارد. مهمترین عامل در تولید میوه و همچنین کارهای اصلاحی استفاده از دانه‌های گرده سالم با حداکثر قوه نامیه می‌باشد. این پژوهش به منظور بررسی جوانه‌زنی درون شیشه‌ای دانه‌های گرده سه رقم نر خرما در غلظت‌های مختلف ساکارز، اسید بوریک و نیترات کلسیم انجام گردید. بدین منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد مطالعه شامل سه رقم خرماي نر غنامی، سمسماوی و غیبانی، چهار غلظت اسید بوریک (۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، سه غلظت نیترات کلسیم (۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و دو غلظت ساکارز (۱۵٪ و ۲۵٪) در محیط کشت تغییر یافته بریویکر و کوک بودند. همچنین مقایسه‌ای بین روش‌های رنگ‌آمیزی و جوانه‌زنی درون شیشه‌ای برای تعیین قوه نامیه انجام گردید. نتایج نشان داد تعیین قوه نامیه به روش درون شیشه‌ای از دقت بسیار بالایی برخوردار بود و بیشترین جوانه‌زنی دانه‌های گرده در شرایط ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید بوریک، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات کلسیم و ۱۵٪ ساکارز بدست آمد. در بین ارقام مورد مطالعه رقم سمسماوی بیشترین (۸۱/۸۷٪) و رقم غنامی کمترین (۵۸/۴۳٪) قوه نامیه را داشتند.

کلید واژه‌ها: نخل خرم (*Phoenix dactylifera L.*)، اگرده، قوه نامیه، جوانه‌زنی درون شیشه‌ای، رنگ‌آمیزی، ارقام نر، خوزستان،

مقدمه

سال قبل استفاده کنند (۱۴). همچنین امروزه یکی از روش‌های حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی گیاهی، نگهداری دانه‌های گرده است (۸). حفظ قوه نامیه^۳ دانه گرده به منظور حذف مشکل زمان و مکان در گرده‌افشانی مصنوعی اهمیت زیادی دارد (۱۷). قوه نامیه گرده نگهداری شده، به روش‌های مختلفی ارزیابی می‌گردد که مهمترین روش‌ها، کشت درون شیشه‌ای^۴ و رنگ‌آمیزی^۵ می‌باشند. در شرایط درون شیشه‌ای، عناصر و ترکیبات محیط کشت، pH و درجه حرارت انکوباسیون بر درصد جوانه‌زنی و رشد لوله گرده اثر می‌گذارند (۴). از

نخل خرما (*Phoenix dactylifera L.*) گیاهی است دوپایه که تشکیل میوه و تولید محصول در ارقام ماده صرفاً در نتیجه گرده‌افشانی بوسیله ارقام نر امکان‌پذیر است (۵). گرده‌افشانی طبیعی خرما توسط باد و حشرات صورت می‌گیرد ولی در باغ‌های تجاری برای دستیابی به تشکیل میوه کافی و مطمئن، گرده‌افشانی به صورت مصنوعی و توسط انسان انجام می‌گیرد (۳). عدم همزمانی در رسیدن گل‌های نر و ماده خرما سبب شده است تا باغداران برای گرده‌افشانی گل‌های ماده باز شده در ابتدای فصل، از گرده نگهداری شده

۱- دانشجوی سابق دکتری دانشگاه تربیت مدرس و استادیار گروه باغبانی دانشگاه شهید چمران اهواز

(mortazavi_mh@scu.ac.ir)

۲- دانشیاران گروه علوم باغبانی و گروه اصلاح نباتات دانشگاه تربیت مدرس تهران

3- Viability
4- *in vitro*
5- Staining

تاریخ دریافت: ۸۴/۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۰/۱۰

بهترین جوانه‌زنی گرده‌های خرما در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد بدست می‌آید، اما الهلال و همکاران^۴ (۶) دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد را برای جوانه‌زنی دانه گرده خرما مناسب دانسته‌اند.

نخل خرما یکی از مهم‌ترین محصولات باغی کشور ایران است که هر ساله با مسأله گرده‌افشانی در مناطق مختلف خرماخیز جنوب روبرو می‌باشد. دستیابی به روشی مناسب جهت ارزیابی قوه نامیه ارقام نر خرما کشور، اطمینان از زنده بودن دانه‌های گرده در عملیات گرده‌افشانی را خصوصاً در برنامه‌های تحقیقاتی افزایش داده و زمینه را برای پژوهش‌های بیشتر فراهم می‌سازد. بدین منظور در این پژوهش علاوه بر مقایسه روش‌های رنگ‌آمیزی با استوکارمن و کشت درون‌شیشه‌ای در ارزیابی قوه نامیه، اثر غلظت‌های مختلف ساکارز و عناصر معدنی بُر و کلسیم در ۲۴ نوع محیط کشت بر جوانه‌زنی دانه‌های گرده سه رقم تجاری خرما نر استان خوزستان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

الف) جمع‌آوری و خشک کردن دانه‌های گرده
این پژوهش در بهار سال ۱۳۸۰ در آزمایشگاه گروه باغبانی دانشگاه تربیت مدرس انجام گردید. به منظور تعیین قوه نامیه و محیط کشت مناسب جوانه‌زنی دانه‌های گرده خرما از سه رقم معروف تجاری نر شامل غنمی، سمسماوی و غیبانی موجود در کلکسیون مرکزی مؤسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور واقع در شهرستان اهواز استفاده گردید. در ابتدای فصل گلدهی (اسفند ماه) درختان نر و نوع آنها با اتیکت مشخص شد. در طول فصل گلدهی، هر روز صبح باغ مورد بررسی قرار گرفته و غلاف‌های رسیده پس از جدا شدن از درخت جهت استخراج گرده به شرایط محیطی استریل منتقل شدند. پس از شکافتن غلاف‌ها،

قابلیت رنگ‌پذیری دانه‌های گرده نیز به عنوان روشی جهت زنده بودن و ارزیابی قوه نامیه آنها استفاده می‌شود. فیلوکسی‌متیل گرین، استوکارمن و سافرانین از جمله موادی هستند که بدین منظور استفاده می‌شوند. روش رنگ‌آمیزی سریع می‌باشد ولی مناسب بودن آن برای گرده برخی گیاهان تأیید نشده است (۱۲).

مطالعه بر روی قوه نامیه دانه گرده نگهداری شده خرما به قبل از سال ۱۹۳۰ برمی‌گردد (۵). با استفاده از محیط کشت تغییر یافته بریوبیکر و کوکاک^۱ (MBK) می‌توان به درصد بالایی از جوانه‌زنی دانه‌های گرده خرما در شرایط درون‌شیشه‌ای دست یافت. طی سالهای اخیر، محققین بسیاری با تغییر غلظت ساکارز، کلسیم یا بُر در محیط کشت، تفاوت‌هایی را در سرعت و میزان جوانه‌زنی دانه‌های گرده گزارش کرده‌اند (۶، ۱۰ و ۱۱). آصف و همکاران^۲ (۷) گزارش کردند که در محیط کشت جامد شده با آگار و حاوی ساکارز، با افزایش غلظت بُر، جیبرلین و ایندول استیک اسید تا ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر، جوانه‌زنی و رشد لوله‌های گرده خرما افزایش می‌یابد. در آزمایش تعیین درصد جوانه‌زنی گرده‌های سه رقم نر خرما عراق روی چندین محیط کشت شامل ۵ غلظت ساکارز، ۶ سطح بُر و تحت سه تیمار نوری مختلف، بیشترین درصد جوانه‌زنی در شرایط ۱۵٪ ساکارز، ۱٪ بُر و در تاریکی بدست آمد (۱۰). در آزمایش دیگری اثر چند ماده شیمیایی مانند اسید بوریک و ایندول استیک اسید بر جوانه‌زنی و رشد لوله گرده ارقام نر خرما بررسی گردید، نتایج نشان داد که این دو ماده در غلظت‌های کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به خوبی سبب تحریک جوانه‌زنی و رشد لوله‌های گرده می‌شوند (۱۵). فور و ریم^۳ (۱۳) گزارش کردند که

1- Modified Brebaker and Kwack

2- Asif, *et al.*

3- Furr and Ream

4- Al-Helal, *et al.*

یخچال قرار گرفتند (۱). برای محاسبه درصد جوانه‌زنی، پتری‌ها در زیر میکروسکوپ نوری Olympus-BH2 با بزرگنمایی ۴۰ برابر بررسی شده و در ۸ میدان دید که به طور تصادفی انتخاب می‌شدند درصد جوانه‌زنی حدود ۴۰۰ عدد دانه گرده تعیین شد و میانگین آن بعنوان درصد جوانه‌زنی آن پتری منظور گردید. دانه گرده‌ای جوانه زده محسوب می‌شد که طول لوله گرده آن برابر یا بیشتر از قطر دانه گرده بود (۱۸).

ج) آزمون جوانه‌زنی به روش رنگ آمیزی

۹۰ سی‌سی اسید استیک مطلق، ۱۱۰ سی‌سی آب مقطر و ۲ گرم کارمن را مخلوط کرده، حرارت داده و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد. در طی این مدت همزمان با گرم شدن، محلول برای اختلاط کامل بهم زده شد. پس از سرد شدن، محلول رنگ از کاغذ صافی عبور داده و تا زمان رنگ‌آمیزی در یخچال (دمای ۴°C) نگهداری گردید (۱۹). برای رنگ‌آمیزی، قطره‌ای از رنگ را روی لام گذاشته و با قلم‌مو، مقداری دانه گرده روی رنگ پخش شد و لامل روی آن قرار گرفت. لام‌ها حدود ۱۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۴۰ قرار داده شد و سپس در زیر میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. تعداد ۴۰۰ عدد دانه گرده شمارش گردید و متوسط دانه‌های گرده رنگ گرفته بعنوان درصد قوه نامیه لحاظ شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی در آزمون تعیین ترکیب محیط کشت مناسب جوانه‌زنی در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج این جدول، اثرات هر چهار فاکتور مورد مطالعه و همچنین اثر متقابل میان تیمارهای مختلف در سطح ۱٪ معنی‌دار بود.

خوشه‌های گل به مدت یک شبانه‌روز در دمای محیط قرار گرفتند. پس از کاهش رطوبت، تمامی رشته‌های هر غلاف به آرامی جدا شده و با استفاده از غربال ریز، دانه‌های گرده آنها استخراج گردید. به منظور خشک شدن، دانه‌های گرده به مدت ۳-۴ ساعت در معرض نور غیر مستقیم خورشید قرار گرفته و سپس درون ظروف شیشه‌ای ضد عفونی شده با الکل جمع‌آوری شدند. نمونه‌های گرده جمع‌آوری شده تا زمان انجام آزمایش درون فریزر (دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند و پس از تکمیل عملیات نمونه‌گیری (حدود دو هفته بعد) آزمون جوانه‌زنی دانه‌های گرده انجام گردید.

ب) آزمون جوانه‌زنی در شرایط درون‌شیشه‌ای

این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. رقم در سه سطح شامل غنمی، سمسماوی و غیبانی فاکتور اول را تشکیل داده و اسید بوریک در چهار سطح صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر، نیترات کلسیم در سه سطح صفر، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و ساکارز در دو سطح ۱۵٪ و ۲۵٪ به ترتیب فاکتورهای بعدی را تشکیل دادند. با توجه به این فاکتورها، ۲۴ نوع محیط کشت با pH برابر با ۵/۷ تهیه گردید که پس از استریل شدن با اتوکلاو در پتردیش‌های استریل یک بار مصرف به قطر ۵ سانتی‌متر توزیع شدند. در تمامی تیمارها مقادیر ۱٪ آگار، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات منیزوم و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم ثابت بود. سپس دانه‌های گرده هر رقم با استفاده از قلم‌موی نرم روی هر یک از محیط کشت‌ها پخش شدند. پتری‌ها توسط پارافیلیم درزگیری شده و درون انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از ۱۲ ساعت، با اسپری کردن اسید استیک ۴۵٪ بر روی گرده‌های واقع بر روی محیط کشت، رشد آنها تثبیت شد و پتری‌ها تا زمان بررسی در

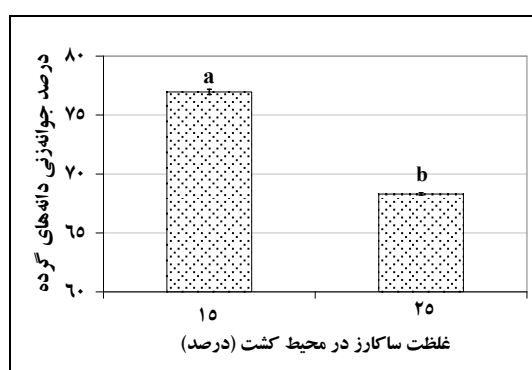
جدول ۱- تجزیه واریانس درصد جوانه زنی در آزمون تعیین ترکیب محیط کشت مناسب برای جوانه زنی دانه گرده خرما

میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۱۱۱۶۵/۱۸**	۲	رقم
۴۱۵۲/۷۷**	۱	ساکارز
۱۰۵/۰۴**	۳	اسید بوریک
۷۰۵/۱۳**	۲	نیترا ت کلسیم
۸۷/۰۶**	۲	اثر متقابل رقم و ساکارز
۲۸/۹۹**	۶	اثر متقابل رقم و اسید بوریک
۱۱۳/۷۹**	۴	اثر متقابل رقم و نیترا ت کلسیم
۱۴۸/۱۵**	۳	اثر متقابل ساکارز و اسید بوریک
۷۲/۱۸**	۲	اثر متقابل ساکارز و نیترا ت کلسیم
۵۱/۲۹**	۶	اثر متقابل اسید بوریک و نیترا ت کلسیم
۱۲/۰۱**	۶	اثر متقابل رقم، ساکارز و اسید بوریک
۴۰/۸۵**	۴	اثر متقابل رقم، ساکارز و نیترا ت کلسیم
۱۹/۲۱**	۱۲	اثر متقابل رقم، اسید بوریک و نیترا ت کلسیم
۱۴۴/۰۹**	۶	اثر متقابل ساکارز، اسید بوریک و نیترا ت کلسیم
۱۴/۴۱**	۱۲	اثر متقابل رقم، ساکارز، اسید بوریک و نیترا ت کلسیم
۱,۸۱	۱۴۴	خطای آزمایش

C. V.= % ۱۶/۷۲

** معنی دار در سطح ۱٪

تنظیم کننده فشار اسمزی و تأمین کننده انرژی



نمودار ۱- مقایسه میانگین تأثیر غلظت های مختلف ساکارز روی درصد جوانه زنی دانه های گرده سه رقم خرما

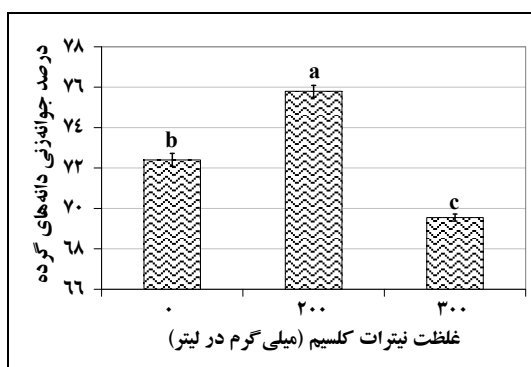
(ستون هایی که با حروف یکسان مشخص شده اند، در سطح اطمینان ۹۵ درصد، اختلاف معنی دار ندارند.)

مقایسه تأثیر سطوح مختلف ساکارز بر درصد جوانه زنی دانه های گرده در نمودار ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که ساکارز در غلظت ۱۵٪ با اختلاف بسیار معنی دار نسبت به غلظت ۲۵٪ سبب جوانه زنی بیشتری گردید (۷۶/۹۷٪ در برابر ۶۸/۱۸٪). این نتایج با گزارشات بوقدیری و بوناجا (۱۰) در زمینه غلظت مناسب ۱۵٪ جهت جوانه زنی گرده خرما مطابقت دارد. غلظت ۲۵٪ ساکارز علاوه بر کاهش درصد جوانه زنی، سبب ترکیدن تعدادی از لوله های گرده شد که این حالت می تواند مربوط به تغییر خاصیت اسمزی محیط کشت باشد (۱۴).

وجود قند در محیط کشت برای جوانه زنی دانه های گرده اهمیت زیادی دارد (۲۰). قندها به عنوان

عبور مولکول‌های قند از غشای سلولی را تسهیل می‌کند (۱۰). اهمیت بورون به عنوان یک عامل تنظیم‌کننده در رشد و رویش لوله‌گرده به وسیله محققین زیادی گزارش شده است. کاهش بورون در محیط کشت سبب تجمع کالوز و پکتین اسیدی در نوک لوله‌گرده، افزایش خفیفی در محتوای فنولیک و اسیدکربوکسیلیک و کاهش قابل توجه در محتوای استرهای اشباع در لوله‌های گرده می‌شود (۲۴). علت کاهش درصد جوانه‌زنی دانه‌های گرده در غلظت‌های بالای بورون می‌تواند به دلیل رامنوگالاکتورونان II در دیواره لوله‌های گرده باشد که هر چه مقدار این نوع قند بیشتر باشد، ترکیب آنها با بورون بیشتر و جوانه‌زنی دانه‌گرده بعلت افزایش استحکام دیواره سلولی دانه‌گرده کمتر می‌شود. کاهش جوانه‌زنی دانه‌های گرده در غلظت‌های بالای بورون توسط محققین مختلفی گزارش شده است (۲ و ۲۳).

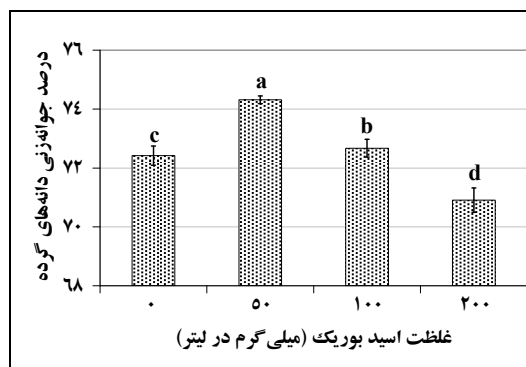
افزودن یون کلسیم به محیط کشت بر جوانه‌زنی تأثیر مثبت داشت و غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر نترات کلسیم با اختلافی معنی‌دار سبب بیشترین جوانه‌زنی گردید (نمودار ۳).



نمودار ۳- مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف نترات کلسیم روی درصد جوانه‌زنی

(ستون‌هایی که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، در سطح اطمینان ۹۵ درصد، اختلاف معنی‌دار ندارند.)

لازم، جوانه‌زنی دانه‌های گرده را تقویت می‌کنند و محققین زیادی بر اهمیت نقش ساکارز در محیط کشت جوانه‌زنی دانه‌های گرده تأکید کرده‌اند (۱۰ و ۹). با توجه به اینکه دانه‌های گرده بیشتری در محیط کشت با غلظت ۲۵ درصد ساکارز پس از جوانه‌زنی ترکیدند به نظر می‌رسد نقش اسمزی ساکارز اهمیت بسزایی در جوانه‌زنی و رشد لوله‌های گرده داشته باشد. همچنین غلظت بالای ساکارز می‌تواند مانع از جذب آب و جوانه‌زنی دانه‌گرده شود (۲۲). مقایسه غلظت‌های مختلف اسید بوریک بر درصد جوانه‌زنی (نمودار ۲) نشان داد که اسید بوریک در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر سبب بیشترین جوانه‌زنی می‌شود.



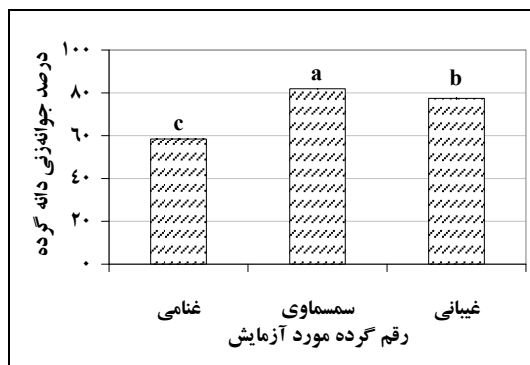
نمودار ۲- مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف اسید بوریک روی درصد جوانه‌زنی

(ستون‌هایی که با حروف یکسان مشخص شده‌اند، در سطح اطمینان ۹۵ درصد، اختلاف معنی‌دار ندارند.)

این نتیجه با گزارشات ابراهیم و سینبل^۱ (۱۵) و ابراهیم و همکاران^۲ (۱۶) مطابقت داشت. اگر چه در پژوهش حاضر غلظت‌های بیش از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید بوریک در محیط کشت سبب کاهش درصد جوانه‌زنی شد. بسیاری از محققین وجود اسید بوریک در محیط کشت را از عوامل مؤثر جوانه‌زنی دانه‌های گرده می‌دانند. احتمالاً یون برات (BO_3^{3-})

1- Ibrahim & Sinble
2- Ibrahim, et al.

داد که گرده رقم سمسماوی بیشترین (۸۱/۸۷٪) و گرده رقم غنمی که در مناطق خرماخیز استان خوزستان طرفداران زیادی دارد دارای کمترین قوه نامیه (۵۸/۴۳٪) می باشد. به نظر می رسد علت مرغوبیت رقم نر غنمی در منطقه علیرغم درصد قوه نامیه کمتر آن، سازگاری با ارقام ماده غالب خرماي خوزستان نظیر استعمران و برخی باشد.

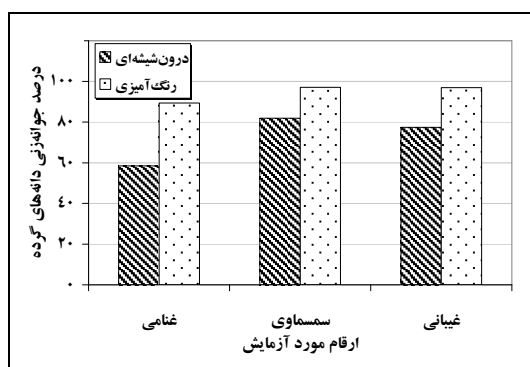


نمودار ۴- مقایسه میانگین درصد جوانه زنی

دانه های گرده ارقام مختلف نر خرما

(ستون هایی که با حروف یکسان مشخص شده اند، در سطح اطمینان ۹۵ درصد، اختلاف معنی دار ندارند.)

مقایسه درصد جوانه زنی دانه های گرده در محیط کشت درون شیشه ای با روش رنگ آمیزی با استوکارمن در نمودار ۵ نشان داده شده است.



نمودار ۵- مقایسه روش های رنگ آمیزی و

کشت درون شیشه ای در ارزیابی قوه نامیه

نتایج این آزمایش نشان داد که افزایش غلظت یون کلسیم تا ۳۰۰ میلی گرم در لیتر روی جوانه زنی دانه های گرده تأثیر منفی دارد. در مورد اثر کلسیم روی جوانه زنی دانه گرده نظریات متفاوتی وجود دارد. این موضوع که Ca^{2+} از نیازهای اساسی رشد لوله گرده می باشد، سال های زیادی است که مورد قبول قرار گرفته است (۲۴).

آزمایشات انجام شده با Ca^{2+} رادیواکتیو نشان داده است که این یون توسط لوله گرده جذب شده و جلوگیری از جذب آن سبب محدود شدن رشد لوله گرده می شود. بر اساس مدارک موجود، ساختمان سلولی به طور مستقیم یا غیر مستقیم تحت نفوذ نوسانات غلظت Ca^{2+} قرار دارد. هنگامی که یون کلسیم در داخل دیواره سلولی گرده به گروه های پکتات کربوکسیل متصل می گردد، H^+ آزاد شده و با اسیدی کردن محیط پیرامون، سبب شل شدن زنجیره های پکتین و نرم شده دیواره سلولی می شود (۲۱). بر اساس نتایج بدست آمده توسط دیگر محققین، سطح مناسب یون کلسیم برای گرده گیاهان مختلف متفاوت بوده و به فیزیولوژی دانه گرده بستگی دارد (۲).

به طور کلی و با توجه به نتایج بدست آمده می توان محیط کشت پایه زیر را برای آزمون جوانه زنی درون شیشه ای دانه های گرده ارقام نر خرما توصیه نمود:

آگار ۱٪، ساکارز ۱۵٪، نیترات کلسیم ۲۰۰ میلی گرم در لیتر، اسید بوریک ۵۰ میلی گرم در لیتر، سولفات منیزیم ۲۰۰ میلی گرم در لیتر و نیترات پتاسیم ۱۰۰ میلی گرم در لیتر.

در مورد اثر رقم اگر چه داده های موجود در نمودار ۴ نشان می دهد که درصد جوانه زنی دانه های گرده در ارقام مختلف متفاوت بود ولی می توان گفت که این اختلاف به دلیل ساختار ژنتیکی متفاوت سه رقم مورد مطالعه می باشد. این نتایج با گزارش آصف و همکاران (۷) مطابقت داشت. همچنین نتایج نشان

سپاسگزاری

بدین وسیله از مؤسسه‌ی تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور جهت همکاری در عملیات نمونه‌گیری، آزمایشگاه‌های علوم باغبانی و اصلاح نباتات دانشگاه تربیت مدرس که در کلیه مراحل انجام این پژوهش همکاری‌های لازم را به عمل آوردند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

در روش رنگ‌آمیزی بیشتر دانه‌های گرده رنگ گرفتند و در مقایسه با روش تست جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای درصد بسیار بیشتری از دانه‌های گرده زنده و دارای قوه نامیه به شمار آمدند. به طور کلی روش رنگ‌آمیزی علیرغم انجام سریع‌تر، از دقت کمتری برخوردار است زیرا بسیاری از گرده‌های با قوه نامیه ضعیف و فاقد قدرت جوانه‌زنی واقعی به دلیل تولید مقادیر اندک گازهای تنفسی رنگ می‌گیرند. بنابراین نمی‌توان آنها را زنده و برخوردار از قوه نامیه به حساب آورد.

منابع

- ۱- احمدی، ن، ارزانی، ک و ا. معینی. ۱۳۸۰. مطالعه و نگهداری، جوانه‌زنی و رشد لوله گرده برخی از ارقام مرکبات، مجله نهال و بذر، جلد ۱۷، صص ۲۱۶-۲۲۹.
- ۲- درویش، م، قناتی، ف. و بخشی خانیکی، غ. ۱۳۸۴. بررسی تأثیر برخی ترکیبات معدنی و آلی بر جوانه‌زنی دانه گرده و رشد طولی لوله گرده در محیط‌های کشت در شیشه. پژوهش و سازندگی، شماره ۶۹، صص ۲ تا ۹.
- ۳- هاشم پور، م ۱۳۷۸. گنجینه خرما، جلد اول (کلیات). نشر آموزش کشاورزی، ۶۶۸ ص.
- 4- Abdul-Baki, A.A. 1992. Determination of pollen viability in tomatoes. Journal of American Society for Horticultural Science, 117: 473-476.
- 5- Albert, D.W. 1930. Viability of pollen and receptivity of pistillate flowers. Report of Date Growers Institute, 7: 5-7.
- 6- Al-Helal, A.A., Basalah, M. O., and Mohammed, S. 1988. Effect of storage and temperature on pollen germination and rate of pollen elongation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.), Phyton, 48: 119-122.
- 7- Asif, M.I., Al-Tahir, O.A., and Farah, A.F. 1983. The effects of some chemicals and growth substances on pollen germination and tube growth of date pollen. HortScience, 18: 479-480.
- 8- Bajaj, Y.P.S. 1987. Cryopreservation of potato germplasm. In: Biotechnology in agriculture and forestry. 3rd. ed, Bajaj, Y. P. S., pp. 471-486. Springer verlag, Berlin. Heidelberg.
- 9- Bolat, I., Pirlak, L., and Iney, H. 1997. The effect of some chemical substances on pollen germination and tube growth in apricot. XIth International Symposium on Apricot Culture. Veria, Greek, pp: 25-30.

- 10- Boughediri, L. and Bounaga, N. 1990. Storage of date palm Pollen, I- preliminary results. *Annales des Sciences Naturelles Botanique et Biologie Vegetate*, 11: 119-124.
- 11- De Mason, D.A. and Sekhar, K.L.N.C. 1988. The breeding system in the date palm and its recognition by early cultivars. *Advances in Economic Botany*, 6: 20-35.
- 12- El-Tomi, A.L. 1957. Effect of cross pollination on June drop, Postharvest drop and cropping in Washington Navel orange. *Annals of Agricultural Science*, 2: 249-265.
- 13- Furr, I.R. and Ream, C.L. 1986. The influence of temperature on germination of date pollen. *Report of Date Growers Institute*, 45: 7-9.
- 14- Ibrahim, A.M.F. 1989. Germination of date palm pollen, I- preliminary results. *Annals des Science Naturelles Botanique et Biologie Vegetable*, 11: 119-124.
- 15- Ibrahim, A.M.F. and Sinble, H.M. 1989. Effect of certain chemicals on pollen germination and tube growth in date palm. *Journal of Agricultural Science Mansoura University*, 14: 2250-2255.
- 16- Ibrahim, A.M.F., El-Kobbia, A.M., Kitat, F.M. and Abd El-Kawy, N.M. 1998. Cytological studies on date palm, II. Influence of the storage periods on pollen viability of four date male types. *Alexandria Journal of Agricultural Research*, 43: 247-254.
- 17- Khosh-khui, M., Bassiri, A. and Niknejad, M. 1976. Effect of temperature and humidity on pollen viability of six rose species. *Canadian Journal of Plant Science*, 56: 517-523.
- 18- Loupassaki, M., Vasilakakis, M. and Androulakis, I. 1997. Effect of pre-incubation humidity and temperature on the *in vitro* germination of avocado pollen grains. *Euphytica*, 94: 247-251.
- 19- Moreira, S. and Gurgel, J.H. (1941). Pollen fertility and correlation with number of seeds in species and forms of the genus *Citrus*. *Brogautia*, San Paulo, I. 669-711. *Plant Breeding Abstracts (UK)*. 14 : 976.
- 20- Shabana, H.R., Malood, E.A., Ibrahim, T.K., Shafaat, M. and Aziz, H.M. 1985. Pollen viability and favourable storage conditions for seven commercial male cultivars of date palm. *Journal of Agricultural and Water Resources Research*, 4: 169-179.
- 21- Franklin-Tong, V.E. 1999. Signaling and the modulation of pollen tube growth. *The plant cell*, 11: 727-738.
- 22- Stone, L.M. 2003. Floral biology and propagation of blue flowered *Conospermum* spp.. PhD thesis, Biology & Biotechnology school, Murdoch University, 155 pp.
- 23- Voyiatzi, C. I. 1995. An assessment of *in vitro* germination capacity of pollen grains of five tea hybrid rose cultivars. *Euphytica*, 83: 199-204.
- 24- Wang, Q., Lu, L., Li, Y. and Lin, J. 2003. Boron influences pollen germination and pollen tube growth in *Picea mergeri*. *Tree physiology*, 23: 345-351.