مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی ، (JSIAU)
شماره ۶۲/۱ زمستان ۱۳۸۵

# اثر تنش خشکی و آبسیزیک اسید بیرونی بر تکوین گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)

**احمد مجد** *
گروه زیست شناسی، دانشگاه تربیت معلم، تهران، ایران
**المیرا جعفریه یزدی**
گروه زیست شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران
**فتح اله فلاحیان**
گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
**رمضانعلی خاوری نژاد**
گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
**فرانسواز برنارد**
گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
**فرزاد جاویدفر**
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج، ایران

Archive of SID

## چکیده

**بررسی اثر تنش خشکی و آبسیزیک اسید بیرونی بر تکوین بخشهای رویشی و زایشی گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) انجام گرفت. تیمارهای بررسی شده گیاهان تحت آبیاری بدون اسپری آبسیزیک اسید، گیاهان تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید و گیاهان تحت تنش خشکی به همراه اسپری غلظتهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر آبسیزیک اسید بیرونی بودند. آزمایش در غالب طرح بلوکهای کامل تصادفی و در سه تکرار کشت شدند. نمونه های ساقه، برگ، غنچه، گل و خورجین گیاهان مورد آزمایش پس از تثبیت با روشهای متداول یاخته-بافت شناختی مورد بررسی قرار گرفتند. تراکم روزنه ای در یک میلی متر مربع از سطح برگ محاسبه شد. افزایش شدت چوبی شدن، کاهش ضخامت منطقه پارانشیم پوستی و بی آب شدن یاخته های پارانشیمی در ساقه و برگ گیاهان تحت تیمارهای سنگین آبسیزیک اسید مشاهده شد. تراکم روزنه ها کاهش یافت. در این پژوهش تسریع نسبی تکوین تخمکها و رویانهای تحت تنش خشکی و آبسیزیک اسید بیرونی نیز مشاهده شد.**

***واژه های کلیدی***: **خشکی، آبسیزیک اسید، تکوین، کلزا (*Brassica napus* L.)**

* عهده دار مکاتبات

www.SID.ir

**مقدمه**

گیاهان در شرایط تنش خشکی با ایجاد تغییرات مرفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیسمی در کلیه اندامهای خود، به تنش پاسخ می دهند. در سطح یاخته ای، پاسخ گیاه به کمبود آب می تواند بصورت آسیبهای یاخته ای ظاهر شود اما ممکن است با ایجاد سازگاری با تنش پاسخهای دیگری نیز بدهد [۱]. تاکنون تعداد زیادی از ژنهای القا شده بر اثر تنش خشکی در گونه های مختلف گیاهی شناخته شده اند و بررسیهای زیادی توسط پژوهشگران در زمینه اساس مولکولی تحمل گیاهان به تنش خشکی انجام شده است [۲ و۱و۳].

آبسیزیک اسید یک بازدارنده رشد گیاهی است که اثرات فیزیولوژیکی زیادی بر رشد و تمایز گیاهان دارد [۴]. آبسیزیک اسید بعنوان یک پیام رسان، در پاسخ به تنشهای خشکی و سایر تنشهای محیطی و نیز در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی از قبیل فتوسنتز و تنظیم باز و بسته شدن روزنه ها نقش دارد [۵و۶]. انتقال سریع آبسیزیک اسید در ساقه ها از طریق آوندهای چوبی و افزایش غلظت آن در اندامهای گیاهی در ارتباط با تغییرات فیزیولوژیکی عمده ای است که در طول پاسخ گیاه به خشکی رخ می دهد[۷]. اگرچه پذیرفته شده که آبسیزیک اسید در پاسخهای عمومی سازگاری به خشکی در گیاهان نقش دارد اما اطلاعاتی هم وجود دارد که نشان دهندهٔ نقش علامت (سیگنال) های بیشتری در این فرایند است [۳و۲].

گیاه کلزا ازتیره کلمیان است. در گونه های کلم برای صفات مرتبط با اجتناب از خشکی نظیر سازگان ریشه ای انبوه و عمیق، مقاومت انتشار برگ [۱]، وضعیت آب گیاه، سطوح آبسیزیک اسید، دمای برگ، از دست دادن آب از برگ جدا شده و تنظیم اسمزی تنوع ژنتیکی وجود دارد [۸].

تاکنون در رابطه با اثرات تنش خشکی و آبسیزیک اسید بیرونی بر تکوین گیاه کلزا گزارشی صورت نگرفته است. به همین دلیل و با توجه به اهمیت گیاه کلزا از نظر تامین روغن و پروتئین گیاهی مورد نیاز کشور، گستردگی نواحی خشک، زیانهای شدید ناشی از خشکسالی ها و نقش آبسیزیک اسید در سازگاری به خشکی، این پژوهش انجام شد.

**مواد و روشها**

دانه های تیپ زمستانه کلزا رقم olara در سال زراعی ۱۳۸۱ در مزرعه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج بخش دانه های روغنی کشت شدند.

تیمارهای مورد بررسی گیاهان آبیاری شده بدون اسپری آبسیزیک اسید، گیاهان تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید و گیاهان تحت تنش خشکی به همراه اسپری غلظتهای ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر آبسیزیک اسید بودند که بر اساس طرح بلوکهای کامل تصادفی در سه تکرار کشت شدند. آبیاری اول پس از کشت دانه ها و آبیاری دوم ۱۰ روز بعد انجام شد. از زمان شروع غنچه دهی، آبسیزیک اسید بر برگها و مریستمها اسپری شد. شیوه اسپری آن دو بار در هفته بین ساعت ۹-۸ صبح بود. از شروع دوره گلدهی آبیاری برای گیاهان تحت تنش خشکی قطع شد.

۱. مقاومت برگی به انتشار بخار آب را گویند.

Archive of SID

www.SID.ir

برای انجام مطالعات یاخته-بافت شناختی نمونه های ساقه و برگ هم سنِ گیاهانِ مورد آزمایش در تثبیت کننده الکل-گلیسرین قرار گرفتند. برشهای دستی آنها تهیه و با کارمن- سبز متیل رنگ آمیزی شدند. نمونه های غنچه، گل و خورجینهای هم سنِ گیاهانِ مورد آزمایش برای انجام برشهای میکروتومی توسط FAA (فرمالدئید ۲ سی سی، اتانول ۱۷ سی سی و استیک اسید ۰/۵ سی سی) تثبیت شدند. برشها بوسیله هماتوکسیلین-ائوزین رنگ آمیزی و با فتومیکروسکپ Zeiss Germany Standard 25-MC80 عکسبرداری شدند.

برای تعیین تراکم روزنه ای، تعداد روزنه ها در ۰/۱۵ میلی متر مربع در ۵ منطقه از سطح برگهای گیاهان مورد آزمایش با استفاده از میکروسکپ Nikon Japan Alphaphot-2 با بزرگنمایی ۴۰ شمارش شدند و سپس تعداد روزنه ها در یک میلی متر مربع محاسبه شد.

## نتایج

الف- نتایج بررسی ساختارهای تشریحی اندامهای رویشی

مقایسه ساختار تشریحی ساقه گیاهان آبیاری شده (شکل الف-۱) و تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید (شکل الف-۲) نشان داد که در ساقه گیاهان اخیر یاخته های پارانشیم پوستی، آبکش و چوب ریزتر و فشرده تر شده و قطر دهانه آوند ها کاهش یافته است. در گیاهان تحت تنش خشکی به همراه غلظتهای رو به افزایش آبسیزیک اسید بیرونی شدت چوبی شدن افزایش یافته، بافت فیبر چوبی در بالای دسته های آوندی بصورت کمانی درآمده، ضخامت ناحیه پارانشیم پوستی و مغز به علت گسترش سازگان آوندی کاهش یافته است و یاخته های پارانشیمی ریزتر و فشرده ترشده اند (اشکال الف-۳، الف-۴ و الف-۵). مقایسه برش عرضی برگ گیاهان آبیاری شده (شکل ب-۱) و تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید (شکل ب-۲)، کوچکتر شدن اندازه یاخته های مزوفیلی، کاهش ضخامت برگ و تغییر شکل یاخته های پارانشیم نردبانی از استوانه ای به مکعبی را در گیاهان اخیر نشان داد. بررسی ساختار تشریحی برگ گیاهان تحت تنش خشکی همراه با غلظتهای رو به افزایش آبسیزیک اسید بیرونی (اشکال ب-۳، ب-۴ و ب-۵) گسترش یاخته های فیبر سلولزی در اطراف دسته های آوندی و بی آب شدن یاخته های پارانشیم حفره ای (شکل ب-۵) را در گیاهان تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۵ میلی گرم در لیتر نشان داد.

ب- نتایج بررسی ساختارهای تشریحی اندامهای زایشی

بررسیها نشان داد که تخمکها در غنچه گیاهان آبیاری شده (شکل ج-۱) در مراحل ابتدایی تکوین بوده و پوسته های تخمک هنوز از یکدیگر متمایز نشده اند در صورتیکه در گیاهانی هم سن اما تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید (شکل ج-۲) و نیز در گیاهان تحت تاثیر غلظتهای رو به افزایش آبسیزیک اسید بیرونی پوسته های تخمک از یکدیگر متمایز شده اند و مجرای سفت در حال باز شدن است (تسریع نسبی در تکوین تخمکها).

در غنچه گیاهان تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید و نیز تحت تیمار آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر (شکل ج-۳) تتراد در برخی تخمکها مشاهده شد ولی در گیاهان تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید

Archive of SID

www.SID.ir

۱۰ میلی گرم در لیتر (شکل ج-۴) و ۱۵ میلی گرم در لیتر (شکل ج-۵) اغلب دیاد و بندرت تتراد مشاهده شد. نتایج مشابهی نیز برای گلهای گیاهان مورد آزمایش بدست آمد.

مطالعه برشهای طولی خورجینهای گیاهان آبیاری شده (شکل د-۱) نشان داد که در بخش سر رویان یاخته ها هنوز از یکدیگر متمایز نشده اند و رویانها در اواسط مرحله گویچه ای هستند. در گیاهانی هم سن اما تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید (شکل د-۲) و نیز همراه تیمار آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر (شکل د-۳) سر رویانها از حالت کروی خارج شده، یاخته های پیش پوست، مریستم زمینه و پروکامبیوم متمایز از هم بودند و رویانها در مرحله مثلثی شکل (Triangular) بودند. در تیمارهای خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۰ میلی گرم در لیتر (شکل د-۴) و ۱۵ میلی گرم در لیتر (شکل د-۵) یاخته های پروکامبیومی هنوز تمایز نیافته بودند و رویانها در اواخر مرحله گویچه ای مشاهده شدند. تغییراتی در وضع بند (طویل شدن نسبی آن) و یا کاهش عرضی یاخته های بند نیز از تغییرات دیگری بود که در گیاهان تحت تاثیر تیمارهای خشکی یا خشکی به همراه آبسیزیک اسید بیرونی مشاهده شد.

بطور کلی می توان نتیجه گرفت که تنش خشکی و خشکی به همراه آبسیزیک اسید بیرونی تغییرات بنیادی در ساختار مادگی و رویان ایجاد نکرده و تنها تا حدودی سبب تسریع نسبی تکوین تخمکها و رویانها در مقایسه با گیاهان تحت آبیاری شده است.

ج- تراکم روزنه های برگی

نتایج تجزیه واریانس تراکم روزنه ای در روپوست زیرین و زبرین (جدول ۱) نشان داد که بین سطوح مختلف تیمارهای مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی دار وجود دارد. مقایسه میانگین تیمارها بر اساس آزمون دانکن (جدول ۲) نشان داد که روپوست زیرین گیاهان تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر و آبیاری بدون اسپری آبسیزیک اسید به ترتیب با ۱۲۸ و۱۳۷/۳ بیشترین تعداد روزنه را داشتند و گیاهان تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۰ میلی گرم در لیتر کمترین تعداد روزنه (۷۰/۷) را دارا بودند. در روپوست زبرین، گیاهان تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر با بیشترین تعداد روزنه (۱۱۷/۳) در سطح A وگیاهان تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید با ۶۸ عدد و همراه با آبسیزیک اسید ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در لیتر با میانگین۵۸/۷ در سطح C قرار گرفتند.

## بحث و تفسیر

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش خشکی به همراه غلظتهای رو به افزایش آبسیزیک اسید بیرونی سبب افزایش شدت چوبی شدن و افزایش ضخامت بخش چوبی دهانه آوندهای چوبی در ساقه و برگ می شود همچنین یاخته های پارانشیمی کوچکتر شده و وسعت منطقه پارانشیم پوستی در ساقه کاهش می یابد. علت این تغییرات می تواند مربوط به حفظ تعادل آب، تنظیم تبخیر و کاهش از دست دادن آب باشد یعنی گیاه برای سازگاری با شرایط تنش خشکی و جلوگیری از به هدر رفتن آب بخشهای چوبی خود را گسترش داده و به این ترتیب ضخامت بخش

Archive of SID

www.SID.ir

چوبی دهانه آوند های چوبی بیشتر شده، قطر دهانه آوندها کاهش یافته است در نتیجه آب با سرعت بیشتری از آوندها عبور می کند و کمتر تبخیر می شود. این تغییرات برای سازگاری با تنش ایجاد شده است. پژوهشگران با مطالعه اثر تنش سرما بر الگوی رشد برگی و ساختار دیواره های یاخته ای در تیپ پاییزه کلزا، سیب زمینی و غلات افزایش معنی دار ضخامت دیواره یاخته ای را گزارش کردند [۹و۱۰و۱۱و۱۲]. از آنجا که تنش سرما همانند تنش خشکی سبب کاهش دسترسی گیاه به آب، افزایش غلظت آبسیزیک اسید درون زا و در نتیجه بسته شدن روزنه برای کاهش تبخیر می شود از اینرو نتایج این پژوهش با نتایج آنها همخوانی دارد.

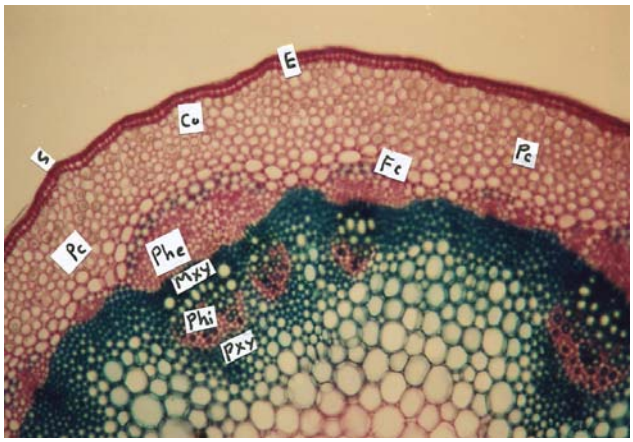
در مورد افزایش تعداد روزنه ها در گیاهان تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر می توان گفت که افزایش ضخامت کوتین در سطح برگ، افزایش کرک و یا کوچکتر شدن اندازه یاخته های روزنه سبب افزایش تعداد روزنه ها برای انجام بهتر تبادلات گازی شده است. کاهش تعداد روزنه ها در سایر گیاهان تحت تیمار آبسیزیک اسید بیرونی و خشکی می تواند نوعی پاسخ به تنش برای کاهش از دست دادن آب از راه تبخیر باشد.

اگرچه در تیره کلمیان پیری گل تا حدودی با افزایش اتیلن در ارتباط است [۱۳] اما پژوهشهای محققان نشان می دهد که آبسیزیک اسید بیرونی با ایجاد تغییرات مرتبط با پیری از قبیل پراکسیداسیون چربیها، نشت یونی و فعال شدن پروتئیناز ها و RNAase ها سبب القای نسخه های پیری طبیعی گل و پیری پیش از موعد گل در گیاهان تحت تنش خشکی و خشکی به همراه غلظتهای رو به افزایش آبسیزیک اسید می شود [۱۴] . نتایج این پژوهش نیز نشان دهنده تسریع پیری در غنچه، گل و رویانهای گیاهان تحت تنش و خشکی به همراه غلظتهای رو به افزایش آبسیزیک اسید بوده است که به تشکیل سریعتر دانه می انجامد و به این ترتیب گیاه از تنش اجتناب می کند.

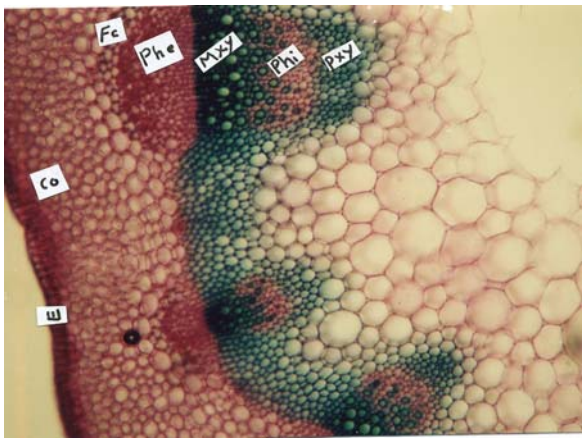
**سپاسگزاری**: بدینوسیله از مسئولان محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند و موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج برای فراهم کردن کلیه امکانات این پژوهش سپاسگزاری می شود.

Archive of SID

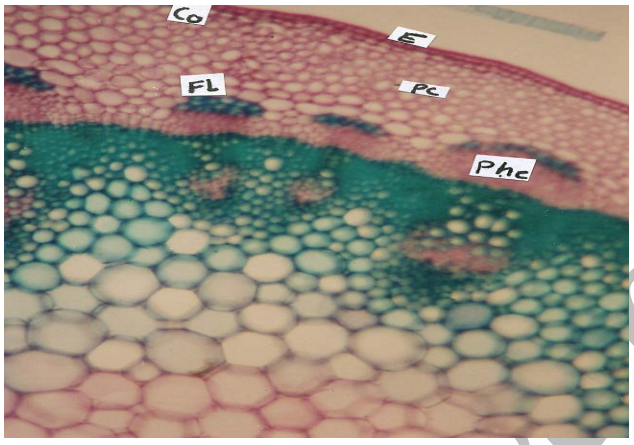
www.SID.ir



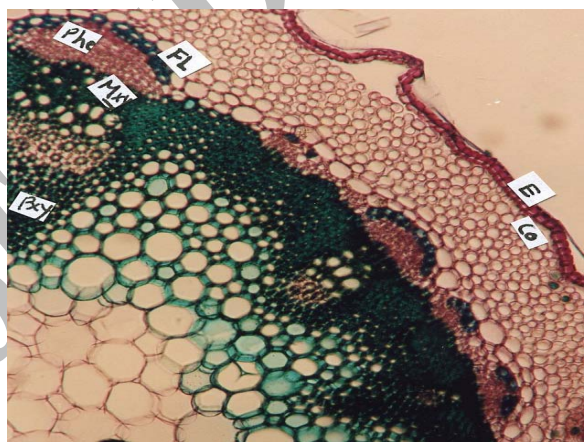

الف-۱



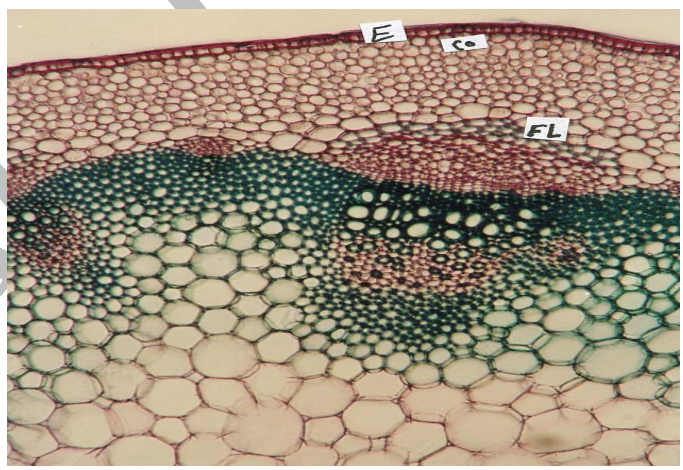

الف-۲




الف-۳




الف-۴




الف-۵

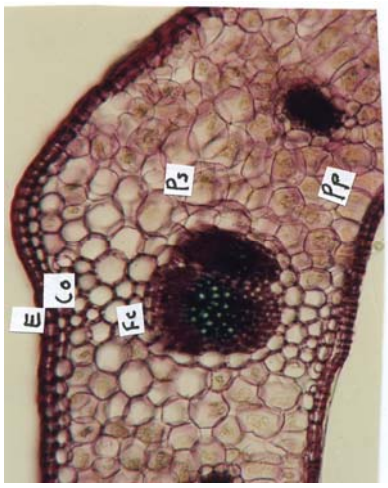
برش عرضی ساقه های گیاهان آبیاری شده (الف-۱)، تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید (الف-۲)، تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر (الف-۳)، تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۰ میلی گرم در لیتر (الف-۴) و تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۵ میلی گرم در لیتر (الف-۵). ۳۳۵x.

Phe: آبکش بیرونی، Phi: آبکش درونی، Pxy: پروتو گزیلم، Mxy: متا گزیلم، s: روزنه

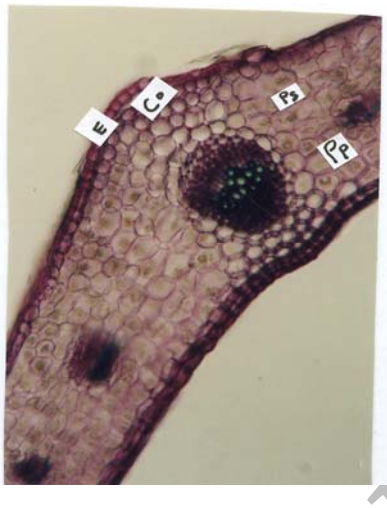
E: روپوست، Pc: پارانشیم پوست، Co: کلانشیم، Fc: فیبر سلولزی، Fl: فیبرچوبی

Archive of SID

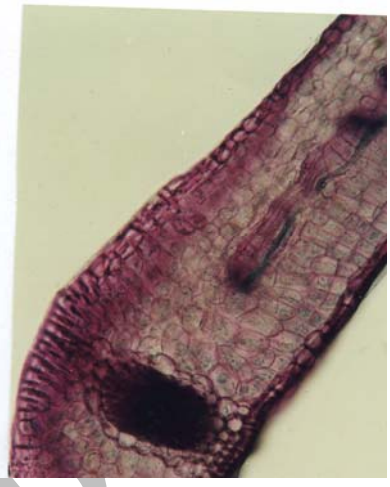
www.SID.ir




ب- ۱

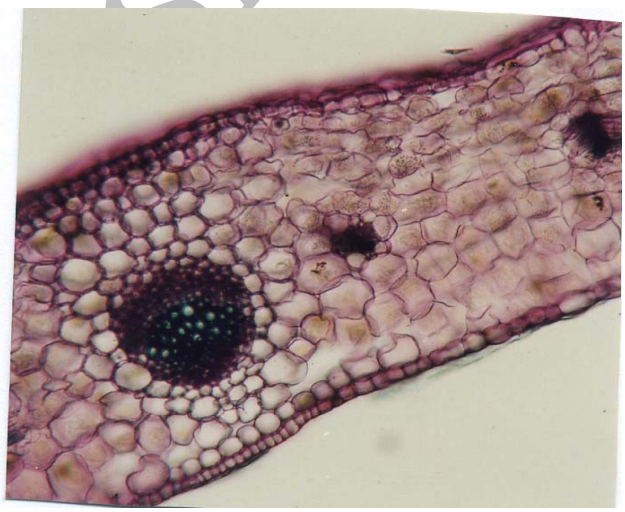



ب- ۲



ب- ۳

ب- ۴



ب- ۵

برش عرضي برگهاي گياهان آبياري شده (ب-۱)، تحت تنش خشكي بدون اسپري آبسيزيک اسيد (ب-۲)، تحت تنش خشكي همراه آبسيزيک اسيد ۵ ميلي گرم در ليتر (ب-۳)، تحت تنش خشكي همراه آبسيزيک اسيد ۱۰ ميلي گرم در ليتر (ب-۴) و تحت تنش خشكي همراه آبسيزيک اسيد ۱۵ ميلي گرم در ليتر( ب-۵).x ۳۳۵.

: فيبر سلولزيFc: آبكش، Phچوب، : Xyپارانشيم نردباني، : Ppپارانشيم اسفنجي، : Psكلانشيم، : Coروپوست، :E

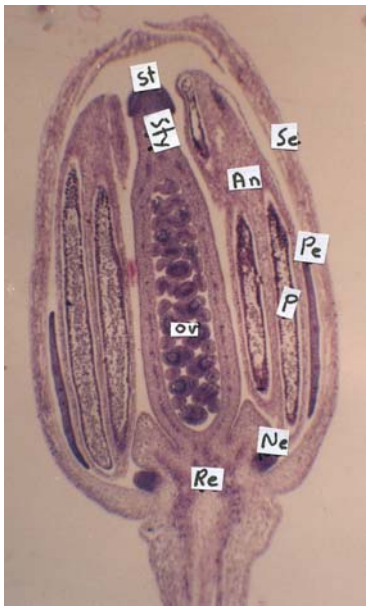
Archive of SID

www.SID.ir

ج- ۲

ج- ۳

ج- ۱



ج- ۴

ج- ۵

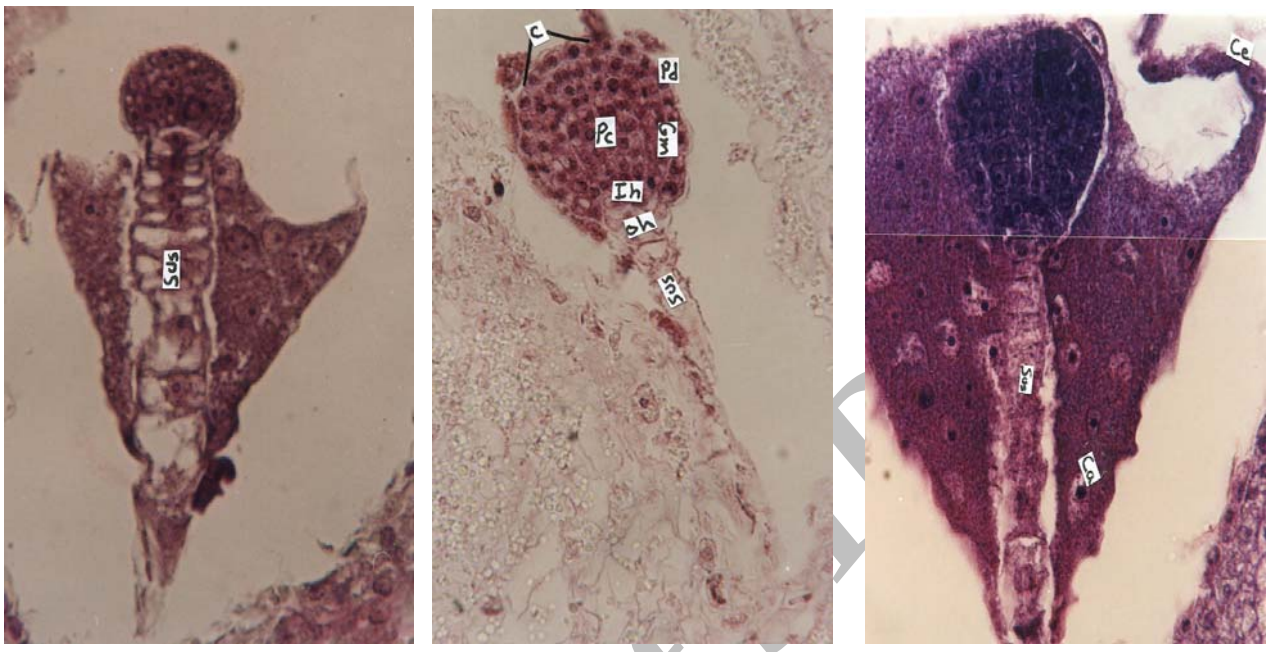
برش طولی غنچه های گیاهان آبیاری شده (ج-۱)، تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید (ج-۲)، تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر (ج-۳)، تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۰ میلی گرم در لیتر (ج-۴) و تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۵ میلی گرم در لیتر (ج-۵).

Se: کاسبرگ، Pe: گلبرگ، Ne: نوش جای، Re: نهنج، An: بساک، P: دانه گرده، Sty: خامه

☆ Ov: تخمک، → : تتراد و :دیاد. ۱۰۷x.

www.SID.ir

د - ۱ د - ۲ د - ۳




د - ۴ د - ۵

برش طولی رویانهای گیاهان آبیاری شده (د-۱)، تحت تنش خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید (د-۲)، تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر (د-۳)، تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۰ میلی گرم در لیتر (د-۴) و تحت تنش خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۵ میلی گرم در لیتر (د-۵). ۱۳۴۰x.

E: روپوست، Pd: پیش پوست، Gm: مریستم زمینه، Pc: پروکامبیوم، C: طرح اولیه لپه ای، Sus: بند، Ih: یاخته های درونی هیپوفیز، Oh: یاخته های بیرونی هیپوفیز، Ca: آندوسپرم یاخته ای، Ce: اندوتلیوم یاخته ای.

www.SID.ir

جدول ۱. تجزیه واریانس تراکم روزنه ای ( روپوست زیرین و زبرین) در تیمارهای مورد بررسی

| منابع تغییرات | درجه آزادی | تراکم روزنه ای روپوست زیرین | تراکم روزنه ای روپوست زبرین |
|---|---|---|---|
| تکرار | ۴ | $^{ns}$۱۰/۱۶۰ | $^{ns}$۴/۵۶۰ |
| تیمار | ۴ | ۸۵/۹۶۰$^{**}$ | ۷۴/۸۶۰$^{**}$ |
| اشتباه آزمایشی | ۱۶ | ۴/۹۳۵ | ۵/۲۶۰ |
| ضریب تغییرات (CV٪) | | ۱۴/۱۷ | ۱۹/۲۴ |

ns : اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد وجود ندارد.

★★ : اختلاف معنی داری در سطح احتمال $P<0.01$ وجود دارد.

جدول۲. مقایسه میانگین تعداد روزنه در تیمارهای مورد بررسی از طریق آزمون دانکن

| تیمار | | میانگین |
|---|---|---|
| روپوست زیرین | آبیاری صفر[۱] | A۱۲۸ |
| | خشکی صفر[۲] | BC ۸۹/۳ |
| | خشکی ۵[۳] | A۱۳۷/۳ |
| | خشکی ۱۰[۴] | C ۷۰,۷ |
| | خشکی ۱۵[۵] | B۹۷/۳ |
| روپوست زبرین | آبیاری صفر | B۹۴/۷ |
| | خشکی صفر | C۶۸ |
| | خشکی ۵ | A۱۱۷/۳ |
| | خشکی ۱۰ | C۵۸/۷ |
| | خشکی ۱۵ | C۵۸/۷ |

[۱] آبیاری بدون اسپری آبسیزیک اسید

[۲] خشکی بدون اسپری آبسیزیک اسید

[۳] خشکی همراه آبسیزیک اسید ۵ میلی گرم در لیتر

[۴] خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۰ میلی گرم در لیتر

[۵] خشکی همراه آبسیزیک اسید ۱۵ میلی گرم در لیتر

Archive of SID

www.SID.ir

## References:


1- Ingram, J., *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **47**, 377 (1996).
2- Griffiths, A.., and Bray E. A., *Journal Experimental Botany*, **47**, 1525 (1996).
3- Munns, R., Passioura, J. B., Milborrow, B. V., James, R. A., and Close, T. J., *Plant Cell Environment*, **16**, 867 (1993).
4- Creelman, R. A., *Physiologia Plantarum*, **75**, 131 (1989).
5- Phillips, J., Artsaenko, O., Fiedler, U., Horstman, C., Mock, H. P., Muntz, K., and Conrad, U., *EMBO Journal*, **16**, 4489 (1997).
6- Rock, C. D., and Quatrano, R. S., *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology, Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers, Second edition*, 671 (1995).
7- Zeevart, J. A. D., and Creelman, R. A., *Annual Review of Plant Physiology*, **39**, 439 (1988).
8- Ahmadi, m., and Javidfar, F., *Screening and Breeding Techniques for Drought Resistance in oleiferous Brassica*, Agricultural Education Publisher, (2000).
9- Griffith, M., and Brown G. N., *Botanical Gazette*, **143**, 486 (1982).
10- Hunter, N. P. A., Palta, J. P., Li, P. H., and Carter, J. V., *Botanical Gazette*, **142**, 55 (1981).
11- Chen, P. M., Li, P. H., and Cunningham W. P., *Botanical Gazette*, **138**, 267 (1977).
12- Stefanowska, M., Kuras, M., Kubacka-Zebalska, M., and Kacperska, A., *Annals of Botany*, **84**, 313 (1999).
13- Vandoorn, W. G., and Stead, A. D., *Molecular and Cellular Aspects of Plant Reproduction*, Cambridge University Press, 239 (1994).
14- Hunter, D. A., Ferrante, A., Vernieri, P. and Ried, M. S., *Physiologia Plantarum*, **121**, 313 (2004).


Archive of SID

www.SID.ir