

اثرات عناصر سنگین سرب و مس بر جوانه‌زنی و رشد لوله گرده چند (*Prunus avium*)

یاور شرفی*

* نویسنده مسئول: استادیار، گروه علوم باگبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران (y.sharafi@shahed.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۰۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۸/۱۰

چکیده

تشکیل میوه تحت تأثیر عوامل مختلف ژنتیکی درختان میوه و فیزیکوشیمیابی محیط قرار می‌گیرد و بروز حالت نامناسب در هر کدام از عوامل یاد شده باعث کاهش گرده‌افشانی، تلقیح، تشکیل میوه و درنهایت عملکرد پایین می‌شود. جوانه‌زنی و رشد لوله گرده یک مرحله اساسی در باروری و تشکیل میوه ارقام مختلف گیلاس است. در باغات اطراف کلان شهرها این پدیده ممکن است تحت تأثیر تنفس عناصر سنگین ناشی از آلودگی محیط‌زیست قرار گیرد. در این تحقیق اثر عناصر سنگین سرب و مس با غلظت‌های (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر) روی جوانه‌زنی و رشد لوله گرده ۵۵ رقم مهم گیلاس موجود در تهران شامل سیاه مشهد، سیاه شبستر، زرد دانشکده، تکدانه، صورتی لواسانات، استلا، لاپینز، ناپلئون، کلت و گیلاس سفید، با روش کشت درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که صفات مورد مطالعه تمامی ارقام به طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت عناصر سنگین، ارقام و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت و در همه ارقام هم درصد جوانه‌زنی و هم رشد لوله گرده به طور هماهنگ با افزایش غلظت سرب و مس در محیط کشت کاهش یافت. گرده‌های رقم Colt بیشتر از همه ارقام تحت تأثیر قرار گرفت. بنابراین، کاشت این رقم در باغات نزدیک کلان شهرهای آلوده توصیه نمی‌شود.

کلید واژه‌ها: گیلاس، جوانه‌زنی گرده، لوله گرده، عناصر سنگین، سرب، مس.

بروز حالت غیرعادی در هر کدام از عوامل یادشده باعث کاهش گرده‌افشانی، تلقیح، تشکیل میوه و درنهایت عملکرد پایین باعث میوه می‌شود. جوانه‌زنی و رشد لوله گرده یک مرحله اساسی در باروری و تشکیل میوه ارقام مختلف گیلاس است (Westwood, 1997). یک محیط مساعد برای جوانه‌زنی و رشد لوله گرده این گیاهان لازم است که این محیط در شرایط طبیعی^۱ روی کلاله خامه سازگار فراهم می‌شود (Sharafi, 2011).

در سال‌های اخیر مناطق مسکونی و صنعتی در کلان شهرهای دنیا مثل تهران گسترش زیادی یافته‌اند.

مقدمه

گیلاس (*Prunus avium*) گیاهی دیپلؤید با $2n=16$ از خانواده Rosaceae و زیر‌تیره Porunoidea بوده و اکثر ارقام آن خودناسازگار یا دگرناسازگار می‌باشند (Choi et al., 2002).

این گیاه یکی از مهم‌ترین محصولات باعثی ایران می‌باشد که بر اساس آمار سازمان خوار و بار جهانی ایران با تولید ۲۵۴۲۵۴ تن در سال در رتبه سوم جهان می‌باشد (FAO, 2012). تشکیل میوه تحت تأثیر عوامل مختلف ژنتیکی درختان میوه و عوامل مختلف محیط (بیولوژیکی، فیزیکی و شیمیابی) قرار می‌گیرد و

گرده سيب به صورت خطى کاهش يافت و در اين بين جيوه بالاترين اثر سمی را داشت و ترتیب سمیت عناصر از زياد به کم شامل جيوه، روی، نیکل و کبالت بود (Munzuoglu and Gur, 2000). عموماً در آزمایش های تجربی روی دانه های گرده گیاهان، کشت درون شيشه ای^۲ آنها با اهداف مختلف انجام می شود و اخيراً از اين تكنیك برای ارزیابی مقاومت ارقام به انواع تنش های محیطی استفاده می شود. بدین منظور با اعمال تنش ها بر گرده در شرایط درون شيشه ای و ارزیابی اثرات آنها، نتایج به دست آمده را به کل گیاه تعیین می دهند و ثابت شده است که بین واکنش گرده به تنش ها و کل گیاه رابطه وجود دارد (Sharma and Dubey, 2005; Soleimani et al., 2010).

در کشور ما به دليل رشد سريع صنایع و افزایش بی رویه ترافيك، ميزان فلزات سنگين نيز به همراه ديگر آلاندنهای هوا ييستر شده است. از طرفی بخاطر جوانهزنی و رشد سريع لوله گرده در شرایط درون شيشه ای می توان بررسی های متعدد از جمله تهیه محیط کشت مناسب و اثر فاكتورهای مختلف را روی جوانهزنی و رشد لوله گرده گیاهان با هzinه کمتر در مدت زمان بسيار کوتاه انجام داد. در اين تحقیق از اثرات سوء عناصر سنگين مس و سرب بر خصوصیات کيفی دانه گرده ده رقم مهم گیلاس موجود در تهران بررسی شد.

مواد و روش ها

اين پژوهش در طول فصل گلدري ارقام گیلاس انتخاب شده در سال های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ انجام گرفت. ابتدا ده رقم گیلاس شامل سیاه مشهد، سیاه شیسته، زرد دانشکده، تکدانه، صورتی لوasanat، گیلاس سفید، استلا^۳، لاپیز^۴، ناپلئون^۵ و کلت^۶ از درختانی که در تهران و مناطق اطراف آن پرورش می یابند انتخاب و

2- In vivo

3- Stella

4- Lapinz

5- Napoleon

6- Colt

توسعه اين مناطق باعث نزديک شدن آنها به زمين هاي کشاورزي بهويژه باگاتي می شود که قبلاً بخاطر تجارت و تغريج توسط کشاورزان و باغداران در نزديکي اين شهرها احداث شده بودند. آلدگي های ناشی از سوخت های فسيلى مناطق مسکونى و صنعتى باعث ورود آلاندنهای مختلف از جمله برخی عناصر سنگين مثل سرب، کادميوم، نیکل، جيوه و ... به هوای اين مناطق می شود. اين مواد توسط باران و یا وارونگی هوا روی زمين هاي کشاورزی و گیاهان مناطق نزديک می شستند. اثرات نامطلوب اين عناصر از طرق مختلف مانند اثر بر اسیدите باران و خاک، روی گیاهان مناطق مذکور مورد مطالعه اساسی قرار نگرفته اند (Andrej, 1996; Demicco et al., 2006). بررسی ها نشان داده است که فلزات سنگين بر تقسيم و رشد سلول ها، رشد کلی گیاه، تقسيم سلولی در منطقه مریستمی و تنظیم رشد و نمو کلی گیاه اثر می گذارند (Das et al., 1997). هم چنین، گزارش شده است که در میان سلول های گیاهی و یا قطعات رویشی گیاهان، دانه گرده به آلاندنهای مختلف بسيار حساس می باشد به طوری که جوانهزنی و رشد لوله گرده در حضور فلزات سنگين متوقف می شود (Gur and Topdemir, 2005).

در مطالعه ای اثرات برخی عناصر سنگين شامل کادميوم، مس، سرب و جيوه بر جوانهزنی و رشد لوله گرده چند رقم گیلاس و زردآلو بررسی و گزارش شد که مس به عنوان يك ممانعت كننده قوى از رشد لوله گرده زردآلو عمل می کند اما سرب اثرات سمي ضعيف تری دارد. در حالی که در مورد گیلاس رشد لوله گرده ييستر به وسیله سرب و جيوه پيشگيري شد (Gur and Topdemir, 2008). هم چنین، در مطالعه ای دیگر، اثر عناصر سنگين جيوه، روی، نیکل و کبالت بر جوانهزنی و رشد لوله گرده سيب رقم گلدن دليشر^۷ در شرایط درون شيشه ای بررسی و گزارش شد که با افزایش غلظت همه عناصر سنگين، جوانهزنی و رشد لوله

1- Golden delicious

گرفت که دانه‌های گرده به طور یکنواخت توزیع شده و فقط دانه‌های گردهای که حداقل طول لوله‌های آن‌ها به اندازه قطر دانه گرده رشد کرده بودند بعنوان دانه گرده جوانه زده محسوب شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام گرفت. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسات میانگین در سطح ۵ درصد آزمون دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی دانه گرده

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت این عناصر درصد جوانه‌زنی دانه گرده به طور چشمگیری کاهش یافت. هم‌چنین، مشاهده شد که درصد جوانه‌زنی دانه گرده بیشتر تحت تأثیر عنصر مس قرار گرفت و با افزایش غلظت این عنصر به 250 ppm درصد جوانه‌زنی تقریباً صفر شد (شکل ۱). هم‌چنین، نتایج مقایسه میانگین اثر عناصر سنگین مس و سرب بر درصد جوانه‌زنی دانه Lapins گرده در ارقام مورد مطالعه نشان داد که رقم $29/1$ ($29/1$ درصد) بیشتر از همه ارقام تحت تأثیر اثر سمتی عناصر مس و سرب گرفت و رقم سیاه شبستر ($45/1$ درصد) کمتر از همه ارقام متأثر گردید (جدول ۱).

طول لوله گرده

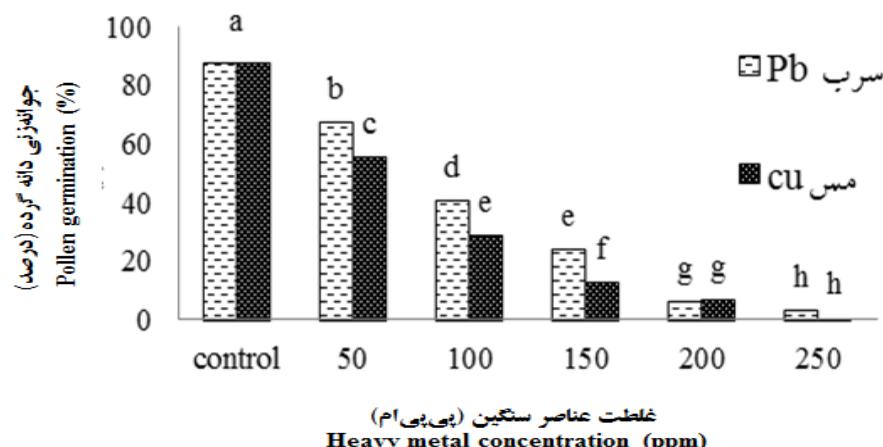
نتایج نشان داد که با افزایش غلظت مس و سرب طول لوله گرده به طور چشمگیری کاهش یافت و مشاهده می‌شود که عنصر مس نسبت به سرب طول لوله گرده را بیشتر کاهش داد. هم‌چنین، نتایج مقایسه میانگین اثر عناصر سنگین مس و سرب بر طول لوله گرده در ارقام مورد مطالعه نشان داد که عنصر مس بیشتر از عنصر سرب طول لوله گرده را کاهش داد (شکل ۲، جدول ۱). گزارش شده است که طول لوله گرده نسبت به خود گرده به سمتی عناصر سنگین حساس تراست. عناصر سنگین زمان چرخه تقسیمات میتوzی سلول‌ها را طولانی‌تر می‌کنند. هم‌چنین، خاصیت پلاستیسیتی دیواره سلول و بزرگ شدن آن را کاهش و از این طریق حالت غیریکنواختی در مورفولوژی و ساختار گرده ایجاد می‌کنند. این پدیده می‌تواند با برهمکنش یون‌های

نشانه گذاری شدند. برای تهیه دانه گرده از شاخه‌های حاوی جوانه‌های گل کافی در مرحله بالونی شدن گل‌ها^۱ از درختان مورد مطالعه انتخاب و در داخل سطل‌های حاوی آب به آزمایشگاه منتقل و یا بطور مستقیم جوانه‌هایی که گرده آن‌ها آماده برای جمع آوری بودند در پاکت‌های کاغذی مخصوص به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از تورم کامل جوانه‌ها و ظاهر شدن گلبرگ‌ها، تمامی بخش‌های گل حذف شده و بساک‌ها از میله‌های پرچم‌ها جدا شده و در داخل پتی دیش‌های برچسب‌دار ریخته سپس به مدت ۴۸ ساعت در شرایط خشک و دمای معمولی اتاق، جهت خشک شدن و آزاد شدن دانه‌های گرده از بساک نگهداری شدند. بعد از جمع آوری دانه‌های گرده، آن‌ها داخل شیشه‌های کوچک آزمایشگاهی، داخل یخچال در دمای -20°C درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بلاfaciale اثر تیمارها بر درصد جوانه‌زنی و طول لوله گرده ارقام با کشت آن‌ها در محیط کشت درون شیشه موربد بررسی قرار گرفت. محیط کشت پایه شامل یک درصد آگار، ده درصد ساکارز و 50 میلی‌گرم در لیتر اسید بوریک بود (Pirlak and Bolat, 1999). تیمار عناصر سنگین CuCl₂ و PbCl₂ شامل سرب و مس به ترتیب از منبع در سطوح صفر، 50 ، 100 ، 150 و 200 μM میکرومول و به محیط‌های کشت اضافه شدند. پس از تهیه محیط کشت و توزیع آن در پتی دیش‌ها، دانه‌های گرده به طور یکنواخت با استفاده از قلم مویی روی محیط کشت پخش شدند. بعد از ۲۴ ساعت روند جوانه‌زنی و رشد لوله گرده از طریق افزودن چند قطره کلروفرم متوقف گردید. محاسبه درصد جوانه‌زنی و طول لوله گرده با میکروسکوپ نوری مجهز به اکولر مدرج (بر اساس میکرومتر: μm) انجام گرفت. بدین منظور تعداد کل دانه گرده و دانه‌های گرده جوانه زده در 5 میدان دید از هر نمونه (تکرار) به صورت تصادفی برآورد شد. جهت جلوگیری از اثر توده‌ای، شمارش دانه گرده و اندازه گیری طول لوله گرده فقط در میدان‌هایی صورت

1- Balloon stage

خاطر در اثر سمیت عناصر سنگین رشد نرمال دیواره متوقف شده قطر و ضخامت سلول افزایش می‌یابد.(Sawidis and Reiss, 1995; Sawidis, 1997)

حاصل از عناصر سنگین با ترکیبات دیواره گرده توجیه شود که دیواره گرده حاوی پکتین و کالوز زیاد ولی سلولز کمتر است در حالی که در سلول های اندام های دیگر گیاهان سلولز به مقدار زیادی وجود دارد به همین



شکل ۱- اثر غلظت های مختلف عناصر سنگین مس و سرب بر درصد جوانه زنی دانه گرده گیلاس.

Fig. 1. Effects of copper and lead on pollen germination of cherry.

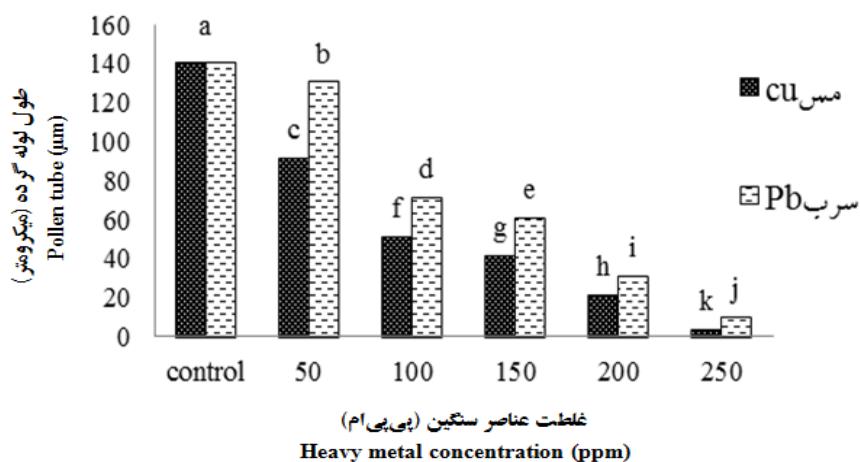
جدول ۱- مقایسه میانگین اثر عناصر سنگین مس و سرب بر درصد جوانه زنی دانه گرده و طول لوله گرده ارقام مورد مطالعه گیلاس

Table 1. The comparison of pollen germination and pollen tube in studied cherry cultivars treated by copper and Lead

Cultivars	Pollen tube			
	سب (PbCl ₂) Pb	مس (CuCl ₂) Cu	سب (PbCl ₂) Pb	جوانه زنی دانه گرده Pollen germination
زرد دانشکده	9.98 ^d	7.48 ^d	30.6 ^f	30.9 ^b
سیاه مشهد	11.07 ^c	5.06 ^g	39.1 ^d	31.9 ^{ab}
سیاه شبستر	12.46 ^a	4.08 ^k	45.1 ^a	29.8 ^c
صورتی لواسانات	6.87 ^g	5.93 ^f	35.6 ^d	29.9 ^c
تکدانه	9.36 ^e	9.22 ^a	34.3 ^e	29.8 ^c
گیلاس سفید	11.80 ^b	7.02 ^e	42 ^c	33 ^a
لپیتر	6.25 ^h	4.61 ^h	31.2 ^{ef}	29.1 ^c
نابلون	5.48 ^a	8.14 ^c	33.6 ^e	29.3 ^c
کلت	4.71 ^l	3.46 ^l	43.6 ^b	32.8 ^a
استلا	7.91 ^f	8.71 ^b	42.3 ^{bc}	31.9 ^{ab}

حروف مشترک در هر ستون نشانگر عدم تفاوت معنی دار بین ارقام است.

In each column, means with the same letters are not significantly different among cultivars.



شکل ۲- اثر خلطت‌های مختلف عناصر سنگین مس و سرب بر طول لوله گرده گیلاس.

Fig. 2. Effects of copper and lead on cherry pollen tube growth.

حساس‌ترین قسمت نسبت به سمیت عناصر سنگین است (Sawidis and Reiss, 1995). بنابراین، بررسی اثرات عناصر سنگین روی جوانه‌زنی و رشد لوله گرده می‌تواند شاخص و استانداردی برای حساسیت گیاهان نسبت به سمیت عناصر سنگین کل گیاه مورد استفاده قرار گیرد. چون این روش آسان، سریع، کم هزینه بوده و نیازی به امکانات ضدغوفونی کردن ندارد. هم‌چنین، چون گرده فاقد کلروپلاست می‌باشد نتایج حاصل مشابه نتایج عناصر سنگین روی سلول‌های انسان و حیوان بوده و قابل تعمیم به آن‌هاست (Zhang *et al.*, 1999; Sawidis, 2008).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج نشان دادند که ارقام، خلطت عناصر سنگین مورد مطالعه و اثر متقابل آن‌ها همگی به‌طور معنی‌داری روی صفات جوانه‌زنی و رشد لوله گرده اثر گذاشتند. در همه ارقام هم درصد جوانه‌زنی و هم رشد لوله گرده به‌طور مرتب با افزایش خلطت عناصر سنگین در محیط کثت کاهش یافت. سمیت ناشی از عنصر مس در مقایسه با عنصر سرب بیشتر بود هم‌چنین، رشد لوله گرده در مقایسه با جوانه‌زنی آن در اکثر ارقام بیشتر تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش یافت و در همه عناصر افزایش خلطت به بیش از ۲۵۰ ppm به صفر رسید.

به‌طور کلی نتایج نشان داد که عنصر مس بیشتر از عنصر سرب درصد جوانه‌زنی دانه گرده را کاهش داد (نمودار ۱ و جدول‌های ۱ و ۲). این تفاوت‌ها به احتمال زیاد به اختلافات ژنتیکی ارقام در ارتباط با مقاومت آن‌ها به شرایط تنفس زای ناشی از عناصر سنگین مس و سرب مربوط می‌شود. برخی محققین گزارش کرده‌اند که عناصر سنگین در خلطت‌های خیلی پایین بدليل اثر مثبت بر فعالیت آنزیم‌ها می‌توانند محرك جوانه‌زنی گرده باشند ولی در خلطت‌های بالا از فعالیت آنزیم‌ها جلوگیری می‌کنند که این خلطت بستگی به گونه و ژنوتیپ گیاه دارد (Munzuoglu and Gur, 2000; Sawidis and Reiss, 1995).

گزارش شده است که عناصر سنگین باعث تحریک تشکیل رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن شده و از این طریق به سلول‌های گیاهی آسیب وارد می‌کنند. بنابراین، می‌توانند درصد جوانه‌زنی دانه گرده را نیز تحت تأثیر قرار دهند (Demicco *et al.*, 2006; Yusuf *et al.*, 2011; Xiong and Tand-Peng, 2001). اخیراً عناصر سنگین به خاطر اثرات خطرناک و سمی روی گیاهان بیشتر مورد توجه محققین قرار گرفته است. از بین تمامی اندام‌ها و بافت‌های گیاهی، گرده

جدول ۲- اثر متقابل عناصر سنجین و ارقام روی درصد جوانهزنی و طول لوله گرد

Table 2. Effect of interaction between cultivars and heavy metals on pollen germination and tube growth of cherry

شرقی: اثرات عناصر سنتکین سرب و مس بر جوانهزنی ...

بررسی‌ها نشان داده‌اند که در حالت عادی وزیکول‌ها در نقطه رشد لوله گرده بیشتر است ولی در تیمار با عناصر سنگین تعداد آن‌ها بشدت کاهش می‌یابد بنابراین، عناصر سنگین اثر خود را بر جوانه‌زنی و رشد لوله گرده از این طریق می‌گذارند (Athar and Masood, 2002; Gur and Topdemir, 2005; Das *et al.*, 1997 و Sawidis and Reiss, 1995). افزایش ترافیک و صنعتی شدن کشورمان تأثیر بسزایی بر کاهش محصول از خود نشان می‌دهد. با این وضعیت مزارعی که به صورت تجاری و کلان در دست احداث می‌باشند باستی از مناطق صنعتی بدور باشند تا رشد گیاه و فعالیت‌های متابولیسمی، گرده‌افشانی و درنتیجه آن تولید محصول تحت تأثیر فلزات سنگین قرار نگیرد.

سپاسگزاری

هزینه انجام این آزمایش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه شاهد تهران تأمین شده است. نگارنده‌گان مراتب سپاسگزاری خود را از مسئولین ذیربطر اعلام می‌دارند. هم‌چنین، از مسئولین محترم آزمایشگاه‌های گروه علوم باگانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد که در اجرای این طرح همکاری داشته‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

در بین ارقام مورد مطالعه گرده‌های ارقام Lapins و Colt بیشتر از همه و گرده‌های رقم سیاه شبستر و زرد دانشکده کمتر از همه ارقام تحت تأثیر قرار گرفتند. هم‌چنین، نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی دانه گرده و طول لوله گرده با هم ارتباط دارند به عبارت دیگر درصد بالاتر جوانه‌زنی با رشد بهتر و طویل‌تر لوله گرده همراه بود به عنوان مثال در رقم سیاه شبستر هم بلندترین طول لوله گرده (۱۲/۴۶ میکرومتر) و هم بالاترین درصد جوانه‌زنی (۴۵/۱ درصد) مشاهده شد و در رقم Lapins که کمترین درصد جوانه‌زنی دانه گرده (۲۹/۱ درصد) داشت از طول لوله گرده بسیار کمی (۴/۶۱ میکرومتر) نیز برخوردار بود. بر اساس نتایج بدست آمده تأثیر فلزات سنگین بر جلوگیری از جوانه‌زنی و رشد لوله گرده را می‌توان به کاهش فعالیت‌های آنزیمی و کاهش تنفس نسبت داد (Das *et al.*, 1997). در مطالعات دیگری نشان داده شده که عناصر سنگین از همانندسازی DNA و سنتز پروتئین جلوگیری و از این طریق در تقسیمات میتوزی حالت غیرنرم‌الایجاد کرده و روی کروموزوم‌ها نیز حالت غیرنرم‌الایجاد می‌کند (Sawidis and Reiss, 1995; Das *et al.*, 1997).

References

1. Andrej, K. 1996. Development and viability of silver fir pollen in air-polluted and non-polluted habitats in Slovakia. Forest Genetic, 3: 147-151.
2. Athar, R. and Masood, A. 2002. Heavy metal toxicity effect on plant growth and metal uptake by wheat, and on free living Azotobacter. Water, Air, & Soil Pollution, 138: 165-180.
3. Choi, C., Tao, R., and Anderson L.R. 2002. Identification of self-incompatibility alleles and pollen incompatibility groups in sweet cherry by PCR based S-allele typing and controlled pollination. Euphytica, 123: 9-20.
4. Das, P., Samantaray, S., and Rout, G.R. 1997. Root studies on cadmium toxicity in plants: A review. Environmetal Pollution, 98: 29-36.
5. Demicco, V., Scala, M., and Aronne, G. 2006. Effects of simulated microgravity on male gametophyte of Prunus, Pyrus and Brasica species. Protoplasma, 228: 121-126.
6. FAOSTAT. 2012. Food and agriculture organization of the United Nations. FAO Statistics Division. www.faostat.fao.org.

7. Gur, N. and Topdemir, A. 2005. Effects of heavy metals (Cd^{++} , Cu^{++} , Pb^{++} , Hg^{++}) on pollen germination and tube growth of qince (*Cydonia oblonga* M.) and plum (*Prunus domestica* L.). *Fresenius Environmental Bulletin*, 14: 36-39.
8. Gur, N. and Topdemir, A. 2008. Effects of some heavy metals on *in vitro* pollen germination and tube growth of apricot (*Armenica vulgaris* Lam.) and cherry (*Cerasus avium* L.). *World Applied Sciences Journal*, 4(2): 195-198.
9. Munzuroglu, O. and Gur, N. 2000. Effects of heavy metals on pollen germination and tube growth of apples (*Malus silvestris* Miller cv. Golden). *Turk Journal Biolgica*, 24: 677-684.
10. Noodelkoska, T.V. and Doran, P.M. 2000. Interactive effects of temperature and metal stress on the growth and some biochemical compounds in wheat seedlings. *Environmental Pollution*, 107: 315-320.
11. Pirlak, L. and Bolat, I. 1999. An investigation on pollen viability, germination and tube growth in some stone fruits. *Turk Journal of Agriculture and Forestry*, 23: 383-388.
12. Sawidis, T. 1997. Accumulation and effects of heavy metals in *Lilium* pollen. *Acta Horticulturae*, 437: 153-158.
13. Sawidis, T. 2008. Effect of cadmium on pollen germination and tube growth in *Lilium longiflorum* and *Nicotiana tabacum*. *Protoplasma*, 233: 95-106
14. Sawidis, T. and Reiss, H.D. 1995. Effects of heavy-metals on pollen-tube growth and ultrastructure. *Protoplasma*, 185: 113-122.
15. Sharafi, Y. 2011. In vitro pollen germination in stone fruit tree of Rosacea family. *African Journal of Agriculture Research*, 6(28): 6021-6026.
16. Sharma, P. and Dubey, S. 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1): 35-52.
17. Soleimani, A., Talaie, A.R., Naghavi, A.R., and Zamani, Z. 2010. Male gametophytic and sporophytic screening of olive cultivars for salt stress tolerance. *Journal Agricultural and Science Technology*, 12: 173-180.
18. Westwood, M.N. 1997. Temperature zone pomology. Freeman, San Francisco, 432 P.
19. Xiong, Z.T. and Peng, Y.H. 2001. Response of pollen germination and tube growth to cadmium with special reference to low concentration exposure. *Ecotoxicol Environ Saf*, 48: 51-55.
20. Yusuf, M., Fariduddin, Q., Hayat, S., and Ahmad, A. 2011. Nickel: An overview of uptake, essentiality and toxicity in plants. *Bull Environ Contam Toxicol*, 86: 1-17.
21. Zhang, W.H., Renge, Z., Kuo, J., and Yan, G. 1999. Aluminium effects on pollen germination and tube growth of *Chamelaucium uncinatum* a comparison with other Ca^{2+} antagonist. *Annals of Botany*, 84(4): 559-564.