

مقاله پژوهشی

تکوین بساک و دانه‌گرده در رقم Bartlett و اثر دما بر جوانه‌زنی دانه‌گرده رقم‌های Bartlett، نطنزی و درگزی در گلابی (*Pyrus communis* L.)

محمد دوستعلی^۱، عبدالکریم چهرگانی‌راد^{۱*} و سعید افشار^۲

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

^۲ گروه زیست‌پزشکی ملکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۸/۲۲)

چکیده

گلابی اروپایی (*Pyrus communis* L.) متعلق به خانواده Rosaceae و زیر طایفه Maleae است. به منظور توسعه دانش تکوین درباره این گونه، مراحل تکوین بساک و دانه‌گرده رقم Bartlett آن با روش‌های رایج بافت‌شناسی مانند تثبیت در FAA، آگیری، قالب‌گیری با پارافین، برش‌گیری با میکروتوم و رنگ‌آمیزی دوگانه همتوکسیلین - انوزین بررسی شد. یافته‌ها نشان داد بساک‌ها دو خانه (بی‌تکا) و چهار کیسه‌گرده‌ای (تتراسپورانژ) است. الگوی نمو دیواره بساک از تیپ پایه (basic) پیروی می‌کند. سیتوکینز میکروسپورها از نوع همزمان و آرایش میکروسپورهای تتراد چهار وجهی (تراهدرال) است. تاپتوم یک‌لایه‌ای، از نوع ترش‌حی و سلول‌های آن دو هسته‌ای است. دانه‌های گرده بالغ دو سلولی، tricolpate و تزئینات اگزین از نوع striate است. شکوفایی بساک درون‌گشا بوده و از طریق شکاف‌های طولی صورت می‌گیرد و دانه‌های گرده به صورت تکی monad آزاد می‌شوند. برای بررسی تأثیر دما بر جوانه‌زنی دانه‌های گرده از سه رقم Bartlett، نطنزی و درگزی استفاده شد. افزایش دما سرعت جوانه‌زنی دانه‌های گرده را در هر سه رقم تسریع می‌کند. در دمای ۵°C، درصد جوانه‌زنی در تمامی ارقام به‌طور کلی پایین‌تر بود. در هر سه رقم، جوانه‌زنی دانه‌های گرده در زمان‌های صفر و ۱ ساعت صفر بود. با افزایش زمان به‌ویژه زمان‌های ۲ و ۴ ساعت درصد جوانه‌زنی افزایش چشم‌گیری یافت، با این حال از زمان ۴ ساعت به بعد درصد جوانه‌زنی در هر سه رقم مورد مطالعه افزایش ناچیزی نشان داد. دانه‌های گرده در دمای ۵°C، جوانه‌زنی کمتری نسبت به سایر دماها داشتند. این نتایج نشان می‌دهد که دمای ۵°C برای جوانه‌زنی دانه‌های گرده این ارقام مناسب نیست و دمای ۲۵°C برای همه ارقام دمای بهینه جوانه‌زنی است.

واژه‌های کلیدی: بساک، تکوین، جوانه‌زنی، دانه‌گرده، گلابی (*Pyrus communis* L.)

مقدمه

است (Wu et al., 2018; Zhang et al., 2021). گلابی پس از سیب (*Malus domestica* L.) یکی از قدیمی‌ترین و مهم‌ترین محصولات میوه از نظر اقتصادی در منطقه معتدله بوده که از دوران باستان از اروپا تا چین رشد کرده است (Chagne et al., 2014; Li et al., 2022). گلابی از نظر تولید جهانی سالانه پس

جنس گلابی (*Pyrus*) متعلق به خانواده Rosaceae و زیرطایفه Maleae است. جنس‌های دیگر زیرطایفه Maleae، به (*Cydonia*) و سیب (*Malus*) هستند. تاکنون فراتر از ۲۲ گونه با بیش از ۵۰۰۰ واریته از جنس گلابی (*Pyrus*) شناخته شده

*نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: Chehregani@basu.ac.ir

گونه‌های *Pyrus* پیچیده است و همچنین برقراری روابط فیلوژنتیکی میان آنها دشوار است (Simionca Marcasan et al., 2023). از سویی، گلابی خودناسازگاری گامتوفیتی دارد (Sassa et al., 1992) که یک مانع تولیدمثل جنسی است و بر میزان محصول اثر دارد، به همین دلیل کاشت یک رقم سازگار دیگر (اهداننده گرده) در مجاورت رقم اصلی تولیدی ضروری است. با این حال، نیاز به ارقام اهداننده گرده برای کاشت مشکلاتی دارد. اولاً، دوره گل‌دهی اهداننده گرده بهینه باید با رقم اصلی هم‌پوشانی داشته باشد (Jacquemart et al., 2006). ثانیاً، بسیاری از ارقام اهداننده گرده میوه مرغوب و در نتیجه سودآوری ندارند و به مراقبت‌های خاصی مانند هرس مناسب و کنترل بیماری نیاز دارند. با این وجود، بدون گرده‌افشانی مناسب و در نتیجه عدم لقاح در تخمک‌ها، تعداد اندکی دانه در میوه تولید می‌شود که منجر به تولید میوه‌های ریز و بد شکل می‌شود (محمدخانی و همکاران، ۲۰۰۳). تعداد و اندازه دانه‌ها بر اندازه و کیفیت میوه در درختان گلابی تأثیر می‌گذارد و بنابراین بازارپسندی میوه را افزایش می‌دهد (Monzon et al., 2004; Sakamoto et al., 2009). اطلاعات کافی در مورد گرده‌افشانی و تشکیل میوه و آشنایی با مجموعه عوامل مؤثر بر آنها مانند تکوین بساک و گامتوفیت نر می‌تواند به کنترل بهتر این پدیده‌ها کمک نماید. هدف از این مطالعه بررسی تکوین بساک و دانه‌گرده در *P. communis* است. نتایج آن می‌تواند اطلاعات مفیدی برای ارزیابی موقعیت طبقه‌بندی و فیلوژنتیکی این گونه ارائه دهد و همچنین برای درک فرآیند تولید مثل جنسی به ویژه وضعیت سلامت و باروری دانه‌های گرده و در نتیجه افزایش محصول مهم است.

جوانه‌زنی دانه‌گرده و گرده‌افشانی تحت تأثیر عوامل مختلف محیطی و زیست‌شناختی قرار می‌گیرند. دما و رطوبت نسبی از عوامل کلیدی هستند، به طوری که نرخ بهینه جوانه‌زنی بین ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود و رطوبت بالاتر به طولانی‌تر شدن لوله گرده کمک می‌کند (Yoo et al., 2022). بسیاری از پارامترهای گرده‌افشانی گونه‌های گل‌سرخیان مانند درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده به وسیله آب و هوا تعیین می‌شود.

از انگور و سیب سومین میوه معتدله و در خانواده Rosaceae پس از سیب دارای رتبه دوم بوده و تولید جهانی سالانه آن در سال ۲۰۲۲ حدود ۲۶/۳ میلیون تن بود (faostat, 2024; Quinet and Wesel, 2019; Zheng et al., 2022). گلابی اروپایی (*Pyrus communis* L.) رایج‌ترین گونه کشت‌شده در اروپا، غرب آسیا، شمال و جنوب آمریکا، استرالیا و آفریقا است (Bell, 1991). این گونه به عنوان مادر تمام ارقام گلابی مورد کشت در ایران در آذربایجان غربی و شمال کشور با نام محلی خج یا خوج پراکنده است (منیعی، ۱۳۷۹). بیشترین باغ‌های گلابی ایران در تهران (کرج)، خراسان، اصفهان، آذربایجان شرقی و غربی و قزوین قرار دارد (Arzani, 2002).

در جنس گلابی گل‌آذین از نوع دیهیم است و هر گل پنج گلبرگ، پنج کاسبرگ و ۲۰ تا ۳۰ پرچم دارد. تخمدان از نوع زیرین و پیوسته برچه است. بافت قاعده پرچم‌ها، گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها به همدیگر جوش خورده لوله گل را تشکیل می‌دهند که همراه با نهنج رشد خواهند کرد تا میوه نهایی گلابی را تشکیل دهند (Neilsen 2005). تاکنون چند پژوهش رویان‌شناسی از خانواده Rosaceae منتشر شده است و ویژگی‌هایی مانند تیپ دیواره بساک، ضخیم‌شدگی‌های اندوتسیوم، تعداد سلول‌های دانه‌گرده بالغ، تیپ کیسه‌رویانی و ... در جنس‌های *Crataegus*, *Fragaria*, *Prunus*, *Chaenomeles*, *Potentilla*, *Agrimonia* و *Rosa* مطالعه شده‌اند (Saffari et al., 2021). در یک پژوهش در مورد گونه گلابی اروپایی (*P. communis*) عملکرد کیسه رویانی و مراحل اولیه رشد رویان میوه‌های ارقام دیپلوئید "سلینا" و تریپلوئید "اینگبورگ" در شرایط خاص آب و هوایی نروژ مورد بررسی قرار گرفت (Cеровic et al., 2020) اما تکوین بساک و دانه‌گرده در این گونه و حتی جنس‌های نزدیک آن یعنی سیب و به نیز گزارش نشده است. بیشتر مطالعات تکوینی روی گلابی مربوط به ساختار و شکل دانه‌گرده و اندام‌های رویشی و سلول‌های سنگی (اسکلریدی) بوده است (Chen et al., 2015; Cheng et al., 2019; Dalalbashi and Alhatem, 2020; Zamani Attar and Maroofi, 2010).

یافته‌ها نشان داده‌اند که ارتباطات فنوتیپی و ژنتیکی بین

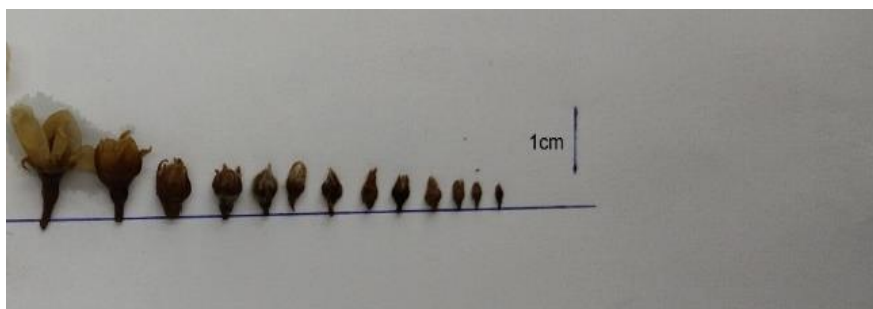
بنابراین، دانستن شرایط بهینه جوانه‌زنی دانه‌گرده مهم است (Weinbaum *et al.*, 1984) و می‌توان با توجه به آن اقدام به کاشت ارقام مناسب برای مناطق با آب و هوای مختلف نمود زیرا کاهش جوانه‌زنی دانه‌گرده ممکن است عامل محدودکننده مهمی در تولید محصول باشد. مقدار محصول به‌طور ویژه‌ای به تنش دمایی در زمان گل‌دهی حساس است (Zinn *et al.*, 2010). تاکنون، چند مطالعه در مورد تأثیر دما بر جوانه‌زنی دانه‌گرده در چند گونه از گل‌سرخیان و از جمله گلایی منتشر شده است (Bhat *et al.*, 2012; Calic *et al.*, 2021; Chagas *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2023). بر اساس مطالعات، بیشتر اعضای این خانواده در دمای نزدیک به 20°C به حداکثر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده یا حداکثر طول لوله‌گرده می‌رسند. در پژوهش کنونی تأثیر دماهای متفاوت بر جوانه‌زنی دانه‌گرده گلایی رقم Bartlett به عنوان یک رقم وارداتی و رقم‌های نطنزی و درگری که اولی رقمی دیرگل‌ده بوده و تطابق مناسبی با اقلیم‌های متفاوت ندارد و دومی که زودگل‌ده است (منیعی، ۱۳۷۹) بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

بررسی تکوینی: در این پژوهش نمونه‌ها از درخت گلایی (P. communis) رقم Bartlett از باغی واقع در استان کردستان (کردستان، بیجار، ۱۵ کیلومتر جاده بیجار - تکاب، طول جغرافیایی $36^{\circ}00'$ شرقی، عرض جغرافیایی $47^{\circ}55'$ شمالی و ارتفاع 1604 متر از سطح دریا) از هفته دوم تا هفته چهارم فروردین سال ۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. غنچه‌های جوان و گل‌های با سایزهای مختلف جمع‌آوری شده (شکل ۱) در فیکساتور FAA (فرمالین ۳۷٪، اسید استیک گلاسیال، اتانول ۷۰٪، ۱۷:۱:۲) تثبیت و در اتانول ۷۰٪ نگهداری شدند و پس از آب‌گیری در سری‌های افزایشی اتانول و قالب‌گیری در پارافین، توسط میکروتوم دستی Micro DS 4055 (دید سبز، ایران) با ضخامت ۵-۸ میکرون برش داده شدند. پس از مراحل پارافین‌زدایی، رنگ‌آمیزی با روش دوگانه همتوکسیلین-ئوزین انجام شد (Chehregani *et al.*, 2009).

برای هر مرحله اسلایدهای زیادی با میکروسکوپ نوری LABOMED (مدل LX50) متصل به دوربین دیجیتال LABOMED (iVu 3100) (Bell، مونزا، ایتالیا) و میکروسکوپ اپی‌فلورسنت (مدل Bell، FLUO-3، مونزا، ایتالیا) متصل به دوربین دیجیتال BEL (مدل BLACKL3000) مشاهده و عکس‌برداری شد. برای هر مرحله تکوینی دست کم ۳۰ نمونه بررسی شد. ویژگی‌های ریخت‌شناختی نیز توسط استریومیکروسکوپ بررسی شد. به منظور بررسی دقیق‌تر ساختار دانه‌گرده *P. communis* از میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) استفاده شد. نمونه‌ها قبل از پوشش‌دهی با طلا، خشک و سپس توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره (JEOL JSM 840 A در ۲۰ کیلوولت) مشاهده شدند (Chehregani *et al.*, 2004).

بررسی اثر دما و رقم بر جوانه‌زنی دانه‌گرده: در پژوهش کنونی تأثیر دماهای متفاوت بر جوانه‌زنی دانه‌گرده گلایی رقم Bartlett به عنوان یک رقم وارداتی و رقم‌های نطنزی و درگری که اولی رقمی دیرگل‌ده بوده و تطابق مناسبی با اقلیم‌های متفاوت ندارد و دومی که زودگل‌ده است (منیعی، ۱۳۷۹) بررسی گردید. پنج درخت برای هر رقم انتخاب شد. غنچه‌های در آستانه شکوفایی که سفیدی نوک گلبرگ‌هایشان نمایان است از هر چهار جهت جغرافیایی (دو غنچه از هر جهت) برداشت و به عنوان نمونه مورد استفاده قرار گرفت. بساک‌ها از غنچه جدا شدند و در دمای اتاق به مدت ۴۸ - ۲۴ ساعت روی یک تکه کاغذ مانند تا خشک شوند. دانه‌های گرده از بساک‌ها جدا شدند. تیمار دمایی در آزمایشگاه و در دماهای 5°C در یخچال و 15°C در اتاق‌های با دمای کنترل‌شده انجام شد. بلافاصله پس از آن، جوانه‌زنی دانه‌گرده در این سه دما در ظروف پتری با پراکندن دانه‌های گرده بر روی محیط جوانه‌زنی جامد متشکل از ساکارز ۰/۳ مولار، نترات کلسیم ۰/۶ میلی‌مولار، اسید بوریک ۱/۶ میلی‌مولار و آگار ۰/۸٪ (حجمی/وزنی) انجام شد. جوانه‌زنی دانه‌های گرده پس از صفر، ۱، ۲، ۴، ۸ و ۲۴ ساعت با انجماد فوری در دمای -20°C متوقف شد. قبل از مشاهده در زیر میکروسکوپ، ظروف پتری به مدت سه ساعت در دمای 4°C قرار داده شد.



شکل ۱- غنچه‌های گلایی در مراحل مختلف تکوینی

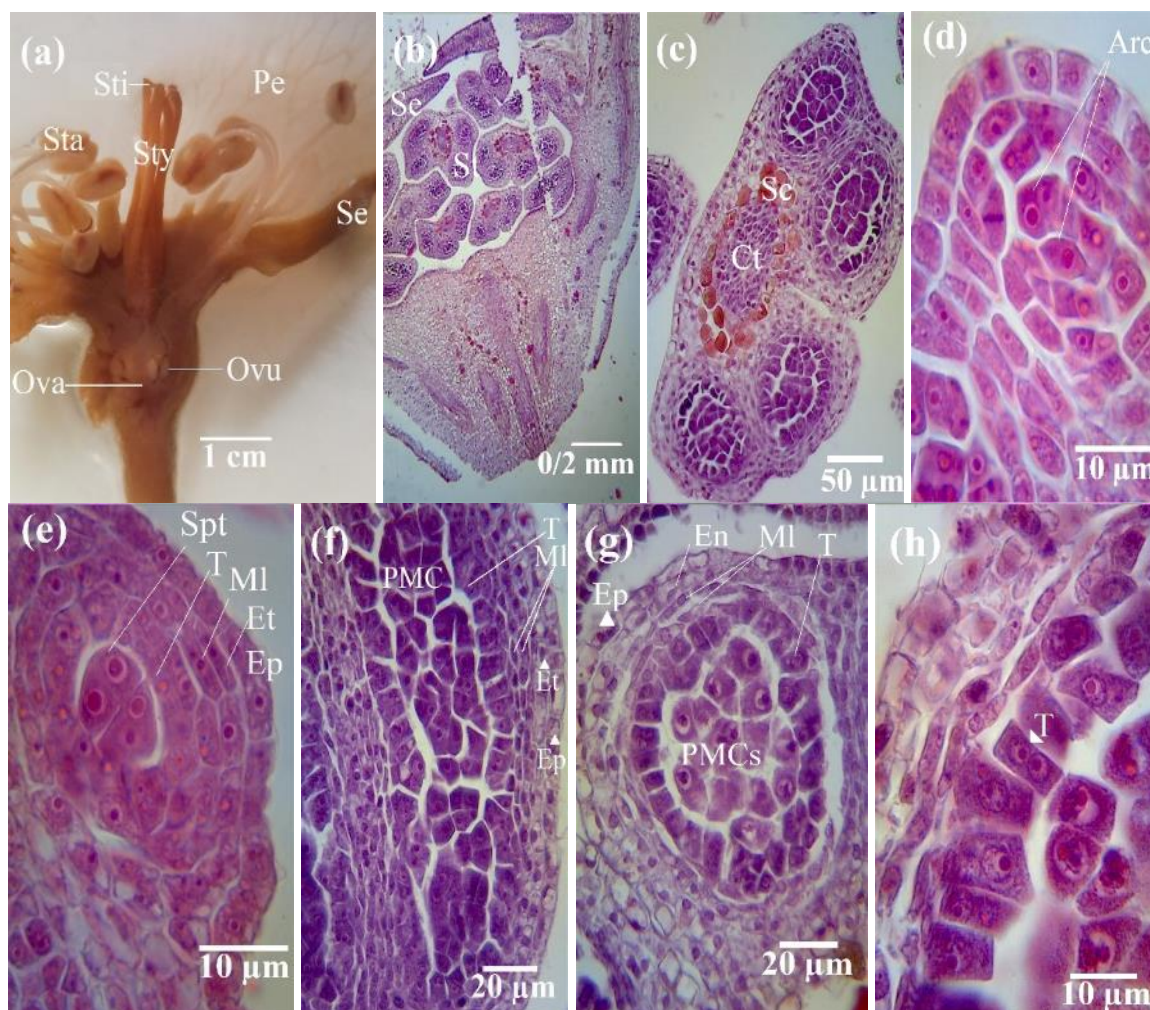
تا از حالت انجماد خارج شوند. هنگامی که طول لوله‌های گرده از قطر دانه گرده آن بیشتر شد، دانه‌گرده به عنوان جوانه‌زده در نظر گرفته شد. برای هر تیمار، جوانه‌زنی در پنج ظرف پتری (یک ظرف پتری به ازای هر درخت منتخب) که در هر یک دانه‌های گرده هشت گل از گل‌آذین‌های متفاوت وجود داشت با شمارش تا رسیدن به حداقل ۱۰۰ دانه گرده در هر ظرف ثبت شد (Hedhly et al., 2005).

نتایج

نتایج بررسی تکوینی: *P. communis* دارای گل‌آذین دیهیم بوده و در هر گل‌آذین بین ۷-۹ گل وجود دارد. این گل‌ها دوجنسی هستند و هر گل شامل پنج کاسبرگ، پنج گلبرگ، ۲۰ تا ۳۰ پرچم و پنج خامه متصل به مادگی پیوسته برچه با تخمدان زیرین متشکل از پنج حفره است که هر کدام حاوی دو تخمک است. میله‌های پرچم‌ها و پایه گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها به هم جوش خورده‌اند (شکل ۲- a). در برش طولی غنچه، بساک‌ها در سطوح متفاوتی مشاهده می‌شوند (شکل ۲- b). خامه‌ها از پرچم‌ها بلندتر هستند (شکل ۲- a). بساک‌ها دوخانه (بی‌تکا) و چهار کیسه‌گرده‌ای (تتراسپورانژ) هستند (شکل ۲- c).

در مراحل اولیه، چند سلول آرکتوسپوری با سیتوپلاسم متراکم در وسط بساک دیده می‌شود (شکل ۲- d). تقسیم‌های آرکتوسپوریوم منجر به تشکیل سلول‌های اسپوروژن (هاگ‌زا) و دیواره بساک می‌شود (شکل ۲- e). سلول‌های اسپوروژن با انجام میتوز سلول‌های مادر گرده (میکروسپوروسیت‌ها) را تولید می‌کنند (شکل ۲- f).

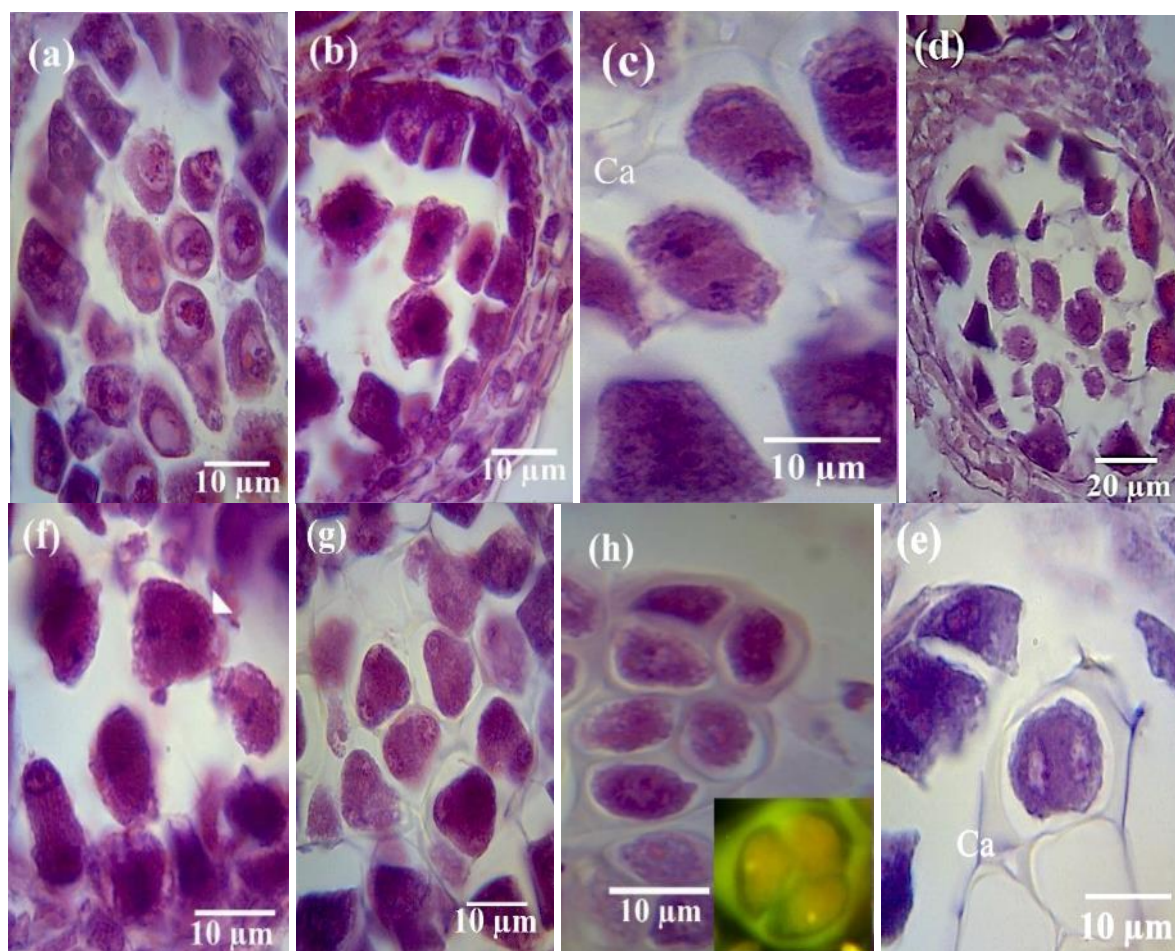
در مراحل اولیه تکوین، دیواره بساک از چهار نوع لایه سلولی تشکیل شده است. از بیرون به درون: اپیدرم، لایه مکانیکی (اندوتسیوم)، لایه میانی و لایه مغذی (تاپتوم) (شکل ۲- e - g). سلول‌های تاپی ابتدا تک‌هسته‌ای هستند (شکل ۲- e). سلول‌های مادر گرده در اوایل تکوین خود چندضلعی هستند و با حجم زیاد، سیتوپلاسم متراکم، واکوئله‌شدن محدود و هسته‌های آشکارشان قابل تشخیص هستند (شکل ۲- f). قبل از ورود به تقسیمات میوز، این سلول‌ها از حالت چندضلعی خارج و بیضوی یا گرد می‌شوند و رنگ‌پذیری آنها افزایش می‌یابد. با گذشت زمان این سلول‌ها درجه بالاتری از واکوئله‌شدن را نشان می‌دهند و از یکدیگر جدا می‌شوند (شکل ۲- g). سپس یک پوشش کالوز دور هر کدام از آنها را احاطه می‌نماید. سلول‌های تاپی تحت گسترش شعاعی قرار می‌گیرند، هسته‌های آنها تقسیم می‌شوند و منجر به دوهسته‌ای شدن و سیتوپلاسم آنها از مواد متراکم پر می‌شود. به‌طوری‌که در زمان شروع میوز، تاپتوم به صورت کاملاً تمایز یافته مشاهده می‌شود (شکل ۲- h). سلول‌های مادر گرده مراحل میوز I را پیاپی انجام می‌دهند و دیادها را تشکیل می‌دهند. سپس بدون ایجاد دیواره سلولی بین دو هسته دختر، سلول‌ها وارد میوز II می‌شوند. پس از تقسیم میوز سیتوکینز میکروسپورها همزمان رخ می‌دهد و آرایش میکروسپورها از نوع چهاروجهی (تتراهدرال) است (شکل ۳- a-h). سلول‌های لایه میانی در ابتدا نازک و دراز هستند و هر کدام دارای یک هسته هستند و سپس تحت تقسیم پریکلینال قرار می‌گیرند و در نتیجه ساختاری دو و در برخی قسمت‌ها سه‌لایه تشکیل می‌شود (شکل ۲- g). نمو دیواره از نوع پایه (basic) است. در طی



شکل ۲- ساختار گل و مراحل تکوین بساک و میکروسپورها در *P. communis* -a اجزای گل، مادگی دارای تخمدان زیرین متشکل از ۵ حفره است که هر کدام حاوی دو تخمک است. -b برش طولی غنچه جوان. -c ساختار بساک به صورت دو خانه و چهار حفره‌ای است. سلول‌های ذخیره‌ای (Sc) با رنگ قرمز در اطراف بافت رابط بساک جوان دیده می‌شوند. -d بساک در مرحله سلول‌های آرکتوسپوری (Arc)، این سلول‌ها با تقسیم خود بافت اسپوروژن را پدید می‌آورند. یک یاخته جداری ثانویه در مرحله متافاز قرار دارد. -e سلول‌های اسپوروژن دارای هسته درشت هستند. لایه‌های سازنده دیواره بساک جوان در تصویر مشخص هستند. سلول‌های تاپی تک‌هسته‌ای هستند. -f سلول‌های مادر گرده که از تقسیم بافت اسپوروژن پدید آمده‌اند. این سلول‌ها چندضلعی و به هم چسبیده هستند. -g و -h دیواره بساک تمایز بیشتری یافته، لایه میانی شامل دو تا سه ردیف است و تاپی هم دو هسته‌ای شده است. سلول‌های مادر گرده واکوئل، کروی و از هم جدا شده‌اند. نشانه‌های اختصاری: se: کاسبرگ، Pe: گلبرگ، St: پرچم، Sti: کلاله، Sty: خامه، Ova: تخمدان، Ovule: تخمک، Ct: بافت رابط بساک، Sc: سلول‌های ذخیره‌ای، Arc: سلول‌های آرکتوسپوری، Spt: بافت اسپوروژن (هاگزا)، T: تاپتوم، Ml: لایه میانی (گذار)، Et: اندوتسیوم، Ep: اپیدرم و PMC: سلول مادر گرده.

کالوز، از تتراد رها می‌شوند (شکل ۴- a). میکروسپورهایی که به تازگی از تترادها رها شده‌اند، در ابتدا شکل نامنظمی دارند و فاقد واکوئل هستند. آنها دارای سیتوپلاسم متراکم و یک هسته در مرکز خود هستند (شکل ۴- a).

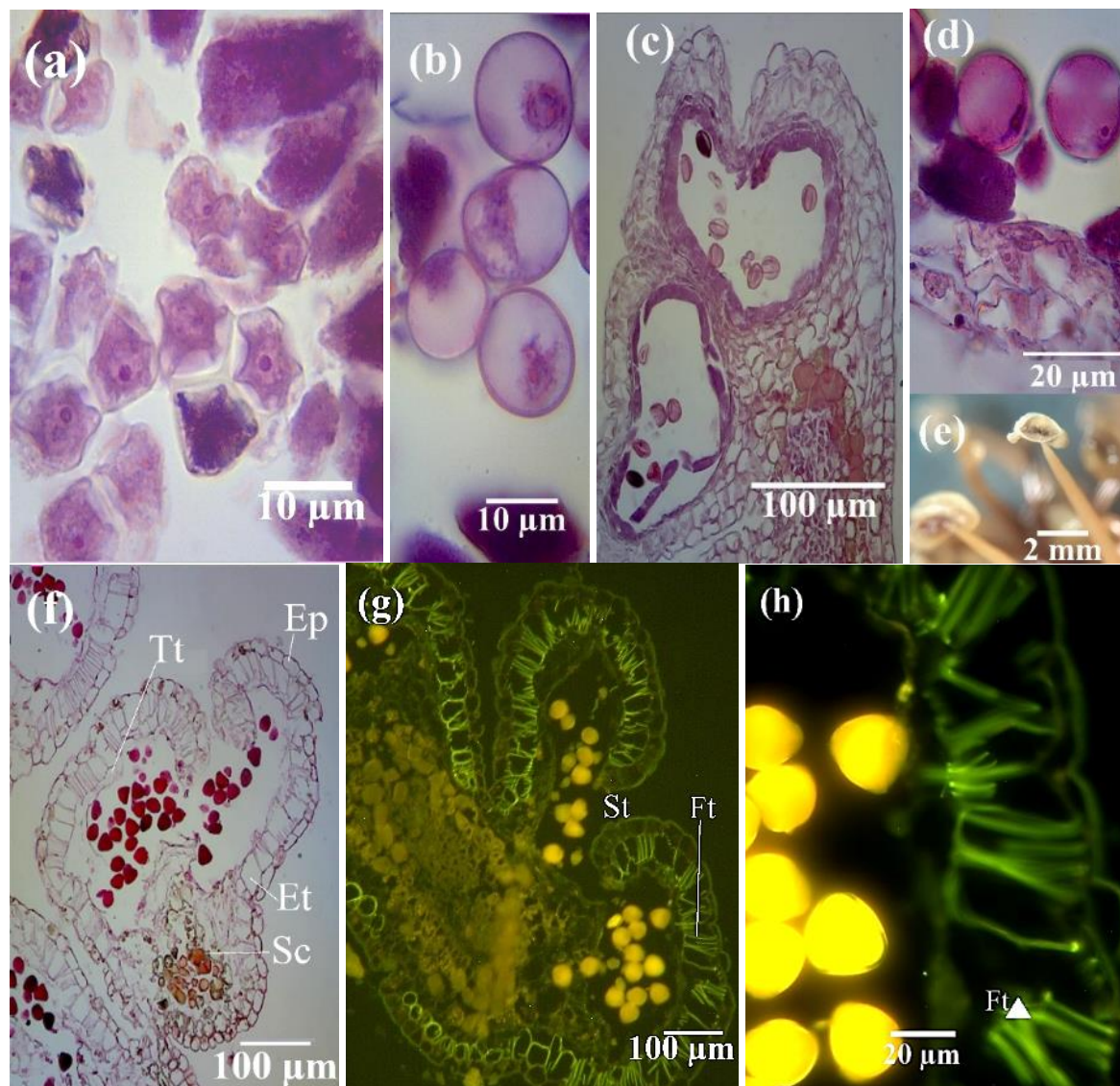
میوز سلول‌های مادر گرده، تمایز در سلول‌های لایه میانی آغاز می‌شود که با کاهش مواد ذخیره‌ای آنها همراه است. با ادامه این روند، این سلول‌ها به تدریج تحلیل می‌روند (شکل ۳- b) و جذب می‌شوند. میکروسپورها نیز با تجزیه دیواره



شکل ۳- میکروسپوروژنز در *P. communis* -a سلول‌های مادر گرده در مرحله پروفاز میوز I. b- سلول‌های مادر گرده در مرحله متافاز میوز I. c- سلول‌های مادر گرده در مرحله آنافاز میوز I. دیواره کالوزی نیز به خوبی مشهود است. d- سلول‌های مادر گرده در مرحله تلوفاز میوز I. e- سلول‌های مادر گرده در مرحله پروفاز میوز II. f- سلول مادر گرده در مرحله متافاز میوز II با فلش نشان داده شده است. g- سلول‌های مادر گرده در مرحله تلوفاز میوز II. h- تتراد میکروسپوری چهار وجهی با میکروسکوپ نوری و فلورسانس. نشانه‌های اختصاری: Ca: کالوز

اندوتسیوم باقی می‌گذارند (شکل ۴- f و g). در طی رشد میکروسپورها، سلول‌های لایه مکانیکی افزایش حجم می‌یابند. دیواره جداکننده کیسه‌های گرده یک خانه (تکا) فرو می‌ریزد. سلول‌های لایه اپیدرم مستطیل شکل و تک‌هسته‌ای هستند و در بساک‌های بالغ پایدار هستند (شکل ۴- f و g). در مرحله باز شدن بساک، ضخیم‌شدگی‌های فیبری در لایه مکانیکی دیده می‌شود (شکل ۴- h). در مرحله بلوغ دانه‌های گرده، این سلول‌ها دچار مرگ سلولی می‌شوند. نهایتاً، پارگی این لایه منجر به شکوفایی بساک می‌شود و پراکندگی دانه‌های گرده را تسهیل می‌نماید. شکوفایی بساک از طریق شکاف‌های طولی در

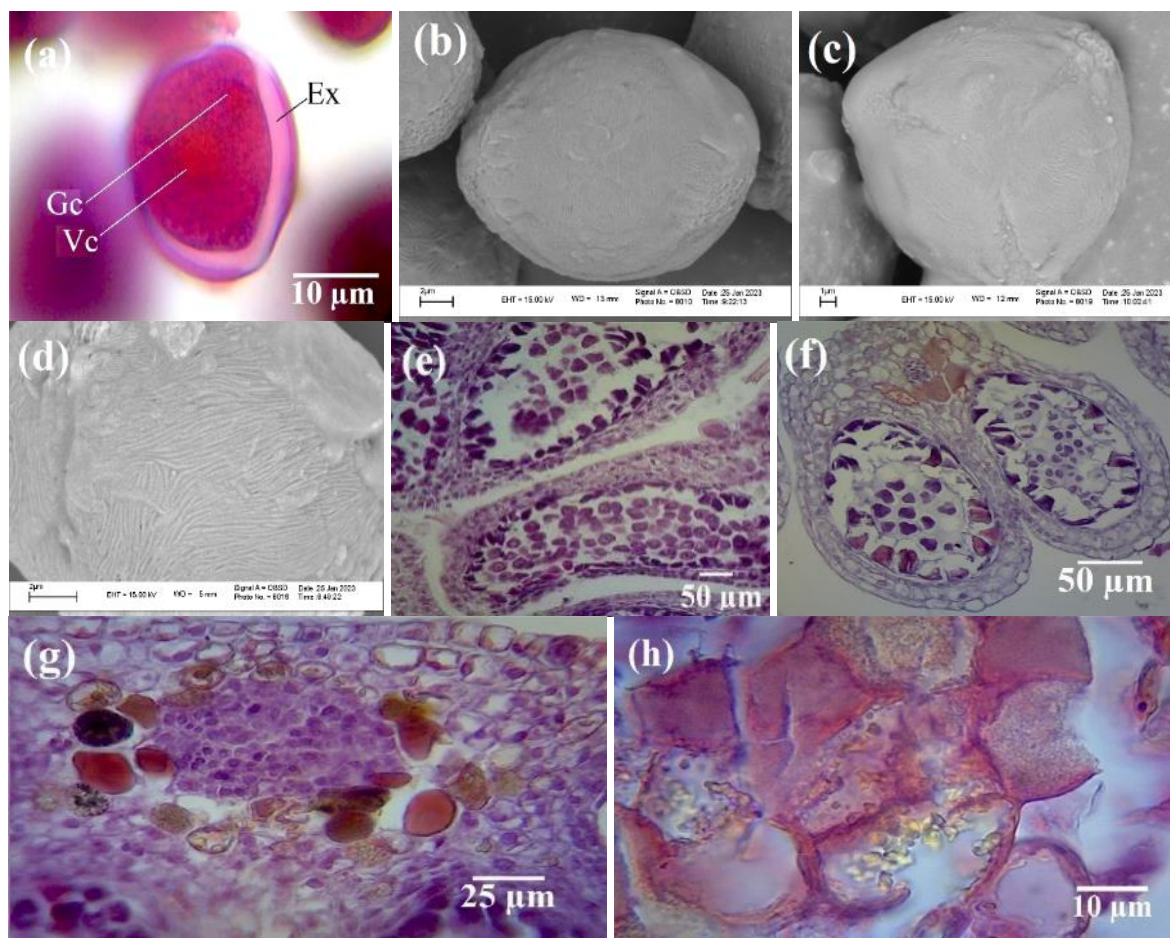
سپس با ایجاد واکنش بزرگ، سیتوپلاسم و هسته به سمت حاشیه میکروسپور جابجا می‌شود و میکروسپور حالت کروی به خود می‌گیرد (شکل ۴- b). در ادامه میکروسپورها دچار کشیدگی شده و از حالت کروی خارج می‌شود (شکل ۴- c) و شیارهای دانه‌گرده شروع به تشکیل می‌کنند (شکل ۴- d). تقریباً در مرحله میکروسپورهای تک‌هسته‌ای، لایه‌های میانی در بساک‌ها وجود ندارند و کاملاً جذب شده‌اند (شکل ۴- c). سلول‌های تاپی از نوع ترش‌جی بوده و در محل اصلی خود تخریب می‌شوند. این سلول‌ها در مرحله دانه‌های گرده تک‌سلولی یا دوسلولی تجزیه می‌شوند و آثاری در نزدیکی



شکل ۴- تکوین دانه‌های گرده در *P. communis* - a - میکروسپورهای تازه رها شده از تتراد که چروکیده هستند و هسته آنها در مرکز سلول قرار دارد. b - میکروسپورها واکوئله شده و هسته آنها به حاشیه رانده شده است. c - میکروسپورها دچار کشیدگی شده و از حالت کروی خارج می‌شوند. لایه میانی تقریباً به طور کامل تجزیه شده است. d - شیارهای دانه‌گرده در حال تشکیل شدن است. f - بساک شکوفا شده درون‌گشا. g و h - وضعیت دیواره بساک شکفته با میکروسکوپ نوری و فلورسانس. سلول‌های لایه مکانیکی افزایش حجم یافته‌اند. دیواره جداکننده کیسه‌های گرده یک خانه (تکا) فرو ریخته است. سلول‌های اپیدرمی مستطیل شکل و تک‌هسته‌ای هستند. آثار تاپی (Tt) غده‌ای در مجاورت لایه مکانیکی مشهود است. سلول‌های ذخیره‌ای (Sc) مشخص اما از اندوخته آنها کاسته شده است. استومیوم به سمت داخل گشوده شده است. h - تصویر میکروسکوپ فلورسانس از ضخیم‌شدگی‌های فیبری لایه مکانیکی و دانه‌های گرده بالغ. نشانه‌های اختصاری: Tt: آثار تاپی، Ft: ضخیم‌شدگی‌های فیبری، St: استومیوم

تخمک صورت می‌گیرد. دانه‌های گرده بالغ دوسلولی هستند. هسته رویشی بزرگتر و کروی است، درحالی‌که هسته زایشی کوچک‌تر و عدسی شکل است (شکل ۵- a). دانه‌های گرده بالغ *P. communis* از نوع tricolpate، ایزوپلار، در نمای

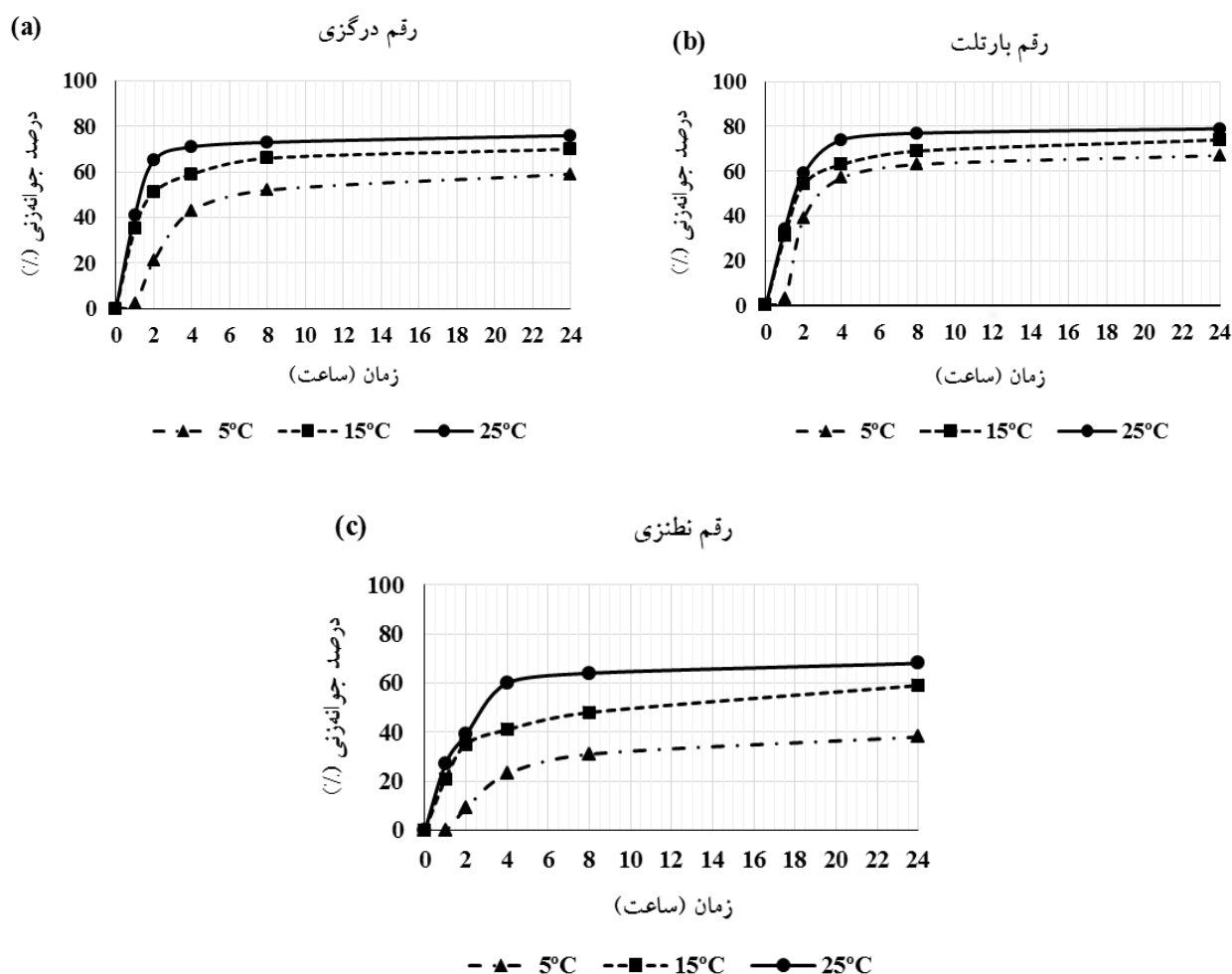
استومیوم صورت می‌گیرد و از نوع درون‌گشا (introse) است و با مشاهدات ریخت‌شناختی نیز قابل تشخیص است. دانه‌های گرده به صورت تک (موناد) پخش می‌شوند (شکل ۴- f و g). به‌طورکلی نمو دانه‌گرده در بساک سریع‌تر از نمو



شکل ۵- تصاویر SEM دانه گرده بالغ و ویژگی‌های بساک در *P. communis* - a - تصویر دانه گرده بالغ دو سلولی با میکروسکوپ نوری. b - تصویر SEM دانه گرده بالغ از نمای استوایی. c - تصویر SEM دانه گرده بالغ از نمای قطبی. d - الگوی اثر انگشت مانند تزئینات اگرین. e - ناهمزمانی در نمو سلول‌های مادر گرده. در بساک بالایی این سلول‌ها در مرحله تروفاز میوز II هستند اما در بساک پایین در مرحله پروفاز میوز I هستند. f - ناهمزمانی در نمو سلول‌های مادر گرده. در کیسه گرده سمت چپ این سلول‌ها در مرحله تروفاز میوز II هستند اما در کیسه گرده سمت راست میکروسپورها در حال راهی از تتراد هستند. g و h - یاخته‌های ذخیره‌ای اطراف بافت رابط بساک و اندوخته آنها با بزرگنمایی‌های متفاوت. نشانه‌های اختصاری: Ex: اگرین، Vc: سلول رویشی و Gc: سلول زایشی.

گرده در تروفاز میوز II قرار دارند میکروسپورهای کیسه مجاور در آستانه جدایی از تتراد و میکروسپوروسیت‌های بساک دیگر در پروفاز میوز I قرار دارند (شکل ۵- e و f). علاوه بر این ویژگی می‌توان به وجود سلول‌های ذخیره‌ای با رنگ‌های خاص (قرمز روشن، طلایی، سبز و ...) در اطراف بافت رابط بساک اشاره کرد. این سلول‌ها غشای چین خورده دارند و حاوی مقدار زیادی اندوخته هستند. این سلول‌ها از مرحله سلول مادر گرده تا اواخر تکوین بساک مشاهده می‌شوند (شکل ۵- g و h).

استوایی بیضی شکل، در نمای قطبی دارای تقارن شعاعی و دارای سه شیار رویشی هستند که با فاصله یکسان به ناحیه قطبی گسترش می‌یابند. طول نمای استوایی دانه‌های گرده بیشتر از طول نمای قطبی آنهاست (شکل ۵- a-c). تزئینات اگرین از نوع مخطط (striate) است (شکل ۵- d). از ویژگی‌های تکوین بساک و دانه گرده در این گیاه این است که میوز سلول‌های مادر گرده در کیسه گرده‌های مختلف یک بساک و نیز در بساک‌های متفاوت دقیقاً همزمان نیست. به‌طوری‌که ممکن است هنگامی که دانه‌گرده‌های یک کیسه



شکل ۶- تأثیر دما بر جوانه‌زنی دانه‌گرده سه رقم گلایی در ۵°C، ۱۵°C و ۲۵°C. (a) رقم درگزی. (b) رقم Bartlett. (c) رقم نطنزی.

در دمای ۱۵°C، سرعت جوانه‌زنی به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت که از نظر آماری معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$). در رقم Bartlett، درصد جوانه‌زنی در زمان دو ساعت به‌طور چشم‌گیری افزایش یافت و تا زمان چهار ساعت ادامه می‌یابد. در ارقام نطنزی و درگزی نیز، درصد جوانه‌زنی در زمان‌های دو و چهار ساعت افزایش سریعی می‌یابد. اما، در این دما، به جز رقم نطنزی پس از چهار ساعت، روند جوانه‌زنی تقریباً ثابت می‌ماند و افزایش محسوسی در درصد جوانه‌زنی مشاهده نمی‌شود.

در دمای ۲۵°C، که به نظر می‌رسد دمای بهینه برای جوانه‌زنی باشد، درصد جوانه‌زنی در تمام ارقام بیشتر است. رقم درگزی در این دما، در زمان دو ساعت و دو رقم دیگر در زمان چهار ساعت تقریباً به بیشترین درصد جوانه‌زنی رسیدند.

نتایج بررسی جوانه‌زنی دانه‌گرده: نتایج بررسی‌ها نشان داد افزایش دما سرعت جوانه‌زنی را در هر سه رقم تسریع می‌کند. دما تأثیر چشم‌گیری بر سرعت جوانه‌زنی دارد، اما جز در رقم نطنزی بر درصد جوانه‌زنی نهایی تأثیر بالایی ندارد (شکل ۶). در دمای ۵°C، درصد جوانه‌زنی در تمامی ارقام به‌طور کلی پایین‌تر بود. در رقم نطنزی، جوانه‌زنی دانه‌های گرده در زمان‌های صفر و ۱ ساعت صفر بود. با افزایش زمان، درصد جوانه‌زنی افزایش یافت، اما این افزایش در مقایسه با دماهای بالاتر اندک بود. ارقام Bartlett و درگزی نیز روند مشابهی داشتند و در دمای ۵°C، کاهش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) جوانه‌زنی نسبت به سایر دماها نشان دادند. این نتایج نشان می‌دهد که دمای ۵°C برای جوانه‌زنی دانه‌های گرده این ارقام مناسب نیست.

جدول ۱- مقایسه ویژگی‌های رویان‌شناختی اندام زایشی نر *P. communis* با ۹ گونه دیگر از خانواده Rosaceae

جنس	<i>Pyrus</i>	<i>Agrimonia</i>	<i>Prunus</i>	<i>Prunus</i>	<i>Rosa</i>
گونه	<i>P. communis</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>P. mahaleb</i>	<i>P. persica</i>	<i>R. spinosissima</i>
ویژگی					
نوع بساک	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ
نمو دیواره بساک	پایه	پایه	پایه	پایه	-
تعداد لایه میانی	۳-۲	۳-۲	۲	۴-۳	۳-۲
نوع تاپتوم	غده ای	غده ای	غده ای	غده ای	غده ای
تعداد هسته سلول تاپتوم	۲	۲-۱	۱	۲-۱	۲
اندوتسیوم	فیبری	فیبری	فیبری	فیبری	فیبری
نوع میوز	همزمان	همزمان	همزمان	همزمان	همزمان
نوع تتراد	تتراهدرال	تتراهدرال	تتراهدرال	تتراهدرال	تتراهدرال
گرده بالغ	Tricolpate	Tricolporate	Tricolpate	Tricolporate	Tricolporate
تعداد سلول‌های گرده	۲ سلولی	۲ سلولی	۳ سلولی	۲ سلولی	۲ سلولی
منبع	پژوهش کنونی	(Saffari et al., 2021)	(Feng et al., 2016)	(Reinoso et al., 2002)	(Shevchenko and Kuzmina, 2018)

یادآوری: نماد - به معنای نبود داده است.

ادامه جدول ۱-

جنس	<i>Rubus</i>	<i>Fragaria</i>	<i>Exochorda</i>	<i>Crataegus</i>	<i>Potentilla</i>
گونه	<i>R. trivialis</i>	<i>F. vesca</i>	<i>E. racemosa</i>	<i>C. tanacetifolia</i>	<i>P. chinensis</i>
ویژگی					
نوع بساک	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ	تتراسپورانژ
نمو دیواره بساک	-	-	پایه	دو لبه ای	-
تعداد لایه میانی	-	۳-۲	۲	۳-۲	-
نوع تاپتوم	غده ای	غده ای	غده ای	غده ای	غده ای
تعداد هسته سلول تاپتوم	۲	۲	چند هسته ای	۲	۱-۲
اندوتسیوم	فیبری	فیبری	فیبری	فیبری	فیبری
نوع میوز	-	-	همزمان	همزمان	-
نوع تتراد	تتراهدرال	تتراهدرال	تتراهدرال	تتراهدرال	-
گرده بالغ	Tricolporate	Tricolporate	Tricolporate	Tricolporate	Tricolporate
تعداد سلول‌های گرده	-	۲ سلولی	۲ سلولی	۲ سلولی	-
منبع	(Johri et al., 2013)	(Hollender et al., 2012)	(Gao, 1998)	(Cetinbas and Unal, 2015)	(Xin et al., 2000)

یادآوری: نماد - به معنای نبود داده است.

این مقدار تا زمان ۲۴ ساعت بدون افزایش قابل توجهی حفظ می‌شود.

بحث

گلایی در زمان گل‌دهی حساسیت زیادی را در برابر سرما از خود نشان می‌دهد. در اطراف گل‌آذین چند لایه فلس وجود دارد. پس از خروج غنچه‌ها از فلس نیز، کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها به‌طور کامل اندام‌های زایشی را می‌پوشانند. چنین ویژگی‌هایی از سازگاری‌های اندام‌های زایشی این گیاه در برابر عوامل نامساعد محیطی محسوب می‌شود. طبق یافته‌های ما تکوین بساک و تخمک در گلایی ناهمزمان است. این ویژگی با خودناسازگاری گامتوفیتی آن قابل توجیه و زمینه‌ای برای لقاح بین واریته‌های مختلف و افزایش تنوع ژنتیکی را فراهم می‌آورد. گل‌های گلایی ۲۰ تا ۳۰ پرچم دارند. این ویژگی از نظر تکاملی ویژگی پیشرفته‌ای نیست اما این تعداد پرچم با ماهیت گرده‌افشانی آن مرتبط است، زیرا بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته عامل جذب حشرات گرده‌افشان بیشتر دانه‌های گرده گلایی است تا نکتار آن (Quinet et al., 2016). در ضمن پرچم‌ها نیز از هم جدا هستند و حرکات گرده‌افشان‌ها را محدود نمی‌کنند.

در جدول ۱ ویژگی‌های اصلی تکوین بساک و دانه‌گرده در *P. communis* با چند گونه از خانواده Rosaceae مقایسه شده است. در خانواده Rosaceae ممکن است بساک یک کیسه‌ای یا مونوسپورائز (مثل *Alchemilla*)، دو کیسه‌ای یا چهار کیسه‌ای باشد. نتایج ما نشان داد که بساک *P. communis* مانند اکثر گونه‌های Rosaceae نظیر *Agrimonia eupatoria*، *Potentilla*، *Rosa spinosissima*، *Chaenomeles japonica* و *Prunus mahaleb* (چهار کیسه‌ای است) (Feng et al., 2016; Kaufman and Rumpunen, 2002; Saffari et al., 2021; Shevchenko and Kuzmina, 2018; Watson and Dallwitz, 1991; Xin et al., 2000) (جدول ۱).

در گلایی سیتوکینز میکروسپورها هم‌زمان و تتراد میکروسپوری چهار وجهی است که با یافته‌های پیشین در خانواده Rosaceae مطابقت دارد (Feng et al., 2016; Saffari et al., 2021) (جدول ۱). در دولپه‌ای‌ها معمولاً سیتوکینز هم‌زمان و در برخی تک‌لپه‌ای‌ها متوالی است (Stant and Fahn, 1975). به نظر می‌رسد تنها شکل تتراد موجود در این

خانواده همین نوع باشد. نمو سلول‌های مادر گرده در بساک‌های مختلف، کیسه‌گرده‌های مجاور متعلق به یک بساک و حتی در یک کیسه‌گرده دارای اختلاف زمانی است. احتمالاً چنین خصوصیتی با افزایش بازه نمو مانع از، از بین رفتن آنها بر اثر عوامل نامساعد محیطی می‌شود.

تعداد ردیف‌های لایه میانی از نظر تاکسونومی یک ویژگی مهم است. در گیاه مورد مطالعه ما لایه میانی دارای دو تا سه ردیف و از نوع پایه است که با گزارش‌ها در مورد بیشتر گونه‌های این خانواده (*F. vesca*، *C. tanacetifolia*، *R. spinosissima* و *A. eupatoria*) همسو است. در این خانواده *P. persica* دارای ۳-۴ ردیف لایه میانی است (جدول ۱). این لایه‌های گذار با انتقال مواد و دخالت در تشکیل پالین‌کیت در نمو دانه‌های گرده مؤثرند. در شکوفایی بساک نیز نقش مکانیکی ایفا می‌نمایند (Batygina, 2002). به پیشنهاد van der Linde و Walbot ممکن است لایه میانی برای جداکردن تاپتوم از ارتباط مستقیم با اندوتسیوم و تأثیرات آن نقش داشته باشد (van der Linde and Walbot, 2019). گونه‌های فعال اکسیژن که به عنوان فراورده جانبی تولید انرژی در اندوتسیوم انباشته شده است، در صورت حذف نشدن می‌تواند سبب مرگ سلول‌های تاپی شود. لایه میانی، حتی در صورت تخریب، ممکن است به عنوان لایه‌ای محافظ برای تاپتوم در برابر اندوتسیوم عمل کند (Murphy, 2015). تاپتوم برای ورود میکروسپوروسیت‌های مجاور خود به میوز نقش کلیدی دارد. نوع سیگنال یا مولکول‌های تغذیه‌ای که تاپتوم به میکروسپوروسیت‌ها می‌دهد بسیار مهم است (Lei and Liu, 2020). لایه تاپتوم در تمام گیاهان خشکی یافت می‌شود، عملکرد دقیق تاپتوم در بساک گیاهان گلدار بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است.

به‌طور کلاسیک، لایه تاپی (تاپتوم) سه نقش در بساک دارد: (۱) تأمین مواد مغذی برای سلول‌های زایا (۲) پیکربندی مجدد میکروسپوروسیت‌ها و دیواره میکروسپور و (۳) تأمین مواد رسوب‌کننده روی دیواره میکروسپور (Zhang et al., 2018). در نهان‌دانه‌ها دو نوع تاپتوم وجود دارد: ترشچی (غده‌ای) و

(Unal, 2015; Feng et al., 2016; Saffari et al., 2021 (جدول ۱).

در رابط بساک برخی گیاهان سلول‌های ذخیره‌ای ویژه‌ای وجود دارند که مواد مختلف شامل چربی‌ها، موسیلاژ، پلی‌ساکارید و ... را در خود ذخیره می‌کنند (Batygina, 2002). وجود چنین سلول‌هایی در این گیاه که در واقع سلول‌های انتقال‌دهنده (transfer) مواد غذایی به کیسه‌های گرده هستند چند عملکردی بودن بافت رابط را نمایان می‌سازد. محققان دیگر از وجود این سلول‌ها در گیاهان دیگر این خانواده سخنی به میان نیاورده‌اند.

تعداد سلول‌های دانه‌گرده بالغ در بیشتر گل‌سرخیان دو عدد است (Watson and Dallwitz, 1991)، نتایج این پژوهش نیز با آنها هم‌راستا است. البته در *P. mahaleb* دانه‌های گرده سه‌سلولی و در *Ch. japonica* و *P. americana* علاوه بر دانه‌های گرده دو سلولی، دانه‌های گرده سه‌سلولی هم گزارش شده است (Feng et al., 2016; Kaufman and Rumpunen, 2002; Saffari et al., 2021 (جدول ۱). تعیین حدود جنس *Pyrus* به کمک ویژگی‌های ریخت‌شناختی دانه گرده در سطح زیرجنس و گونه دشوار است، به‌طوری‌که تعداد گونه‌ها به بیش از ۸۰ گونه افزایش یافته است (Browicz, 1993). با مطالعه ویژگی‌های ریخت‌شناختی دانه‌گرده ۹ گونه (غیر از گونه مورد مطالعه ما) از جنس *Pyrus* توسط Zamani و همکاران بر این دشواری تشخیص نمونه‌ها از نظر شکل و تزیینات دانه‌های گرده، حتی در نمونه‌های مختلف یک گونه (به دلیل تنوع زیاد) تأکید شده است (Zamani et al., 2010). با این شرایط، احتمالاً یافته‌های ما می‌تواند یک ویژگی توصیفی (و نه تشخیصی) مربوط به این گونه باشد. آنها بر اساس تفاوت‌های ساختار سطحی چهار تیپ دانه‌گرده I. دارای شیارهای ژرف و اثر انگشت مانند و فاقد هر گونه سوراخ، II. دارای منافذ بین شیارها III. دارای منافذ متراکم و بزرگ و IV. دارای شیارهای ناآشکار) را مشخص کردند. یافته‌های پژوهش حاضر با تیپ I هم‌خوانی دارد. در نمونه مورد بررسی در این پژوهش برخلاف بیشتر اعضای این خانواده که دارای دانه‌های گرده

آمیبی (Ettore Pacini et al., 1985). لایه تاپتوم، یک لایه سلولی تخصصی است که بافت اسپوروژن را احاطه کرده، نقش تغذیه‌ای داشته و آنزیم‌های مختلف و پیش‌سازهای آگزین را برای دانه‌های گرده تأمین می‌کند (Chapman, 1987; Pacini, 1993 and Franchi, 1993). در پژوهش فعلی این لایه به‌طور پی‌درپی تمایز مجدد می‌یابد تا در هر مرحله نقش جدیدی را ایفا نماید. Dallwitz بیان کرد که سلول‌های تاپتوم در خانواده Rosaceae فقط از نوع غده‌ای است (Watson and Dallwitz, 1991). در *P. communis*، تاپی از نوع ترشحی و سلول‌های بالغ آن دوهسته‌ای است. این نوع تاپی در تمام جنس‌های مورد مطالعه خانواده Rosaceae بجز *Crataegus* که دارای هر دو نوع تاپی است عمومیت دارد، درحالی‌که تعداد هسته‌های سلول‌های تاپی متنوع است. برای مثال در *A. eupatoria* یک - دو هسته‌ای و در *Exochorda racemosa* چند هسته‌ای است (Baozhong et al., 1997; Feng et al., 2016; Hollender et al., 2012; Kaufman and Rumpunen, 2002; Leszczuk et al., 2018; Reinoso et al., 2002; Shevchenko and Kuzmina, 2018; Watson and Dallwitz, 1991; Xin et al., 2000 (جدول ۱). در طی تکوین بساک تقسیم سلول‌های لایه‌های میانی و تاپتوم سبب افزایش اندازه بساک و سپس تجزیه آنها موجب افزایش حجم فضای داخلی آن برای دانه‌های گرده در حال رشد و نمو می‌شود.

لایه مکانیکی یکی دیگر از لایه‌های دیواره بساک است و سلول‌های آن برای رشد بساک ضروری هستند زیرا دارای کلروپلاست بوده و محل اصلی سنتز نشاسته و فتوستتر در بساک هستند (Zhu et al., 2020). قبل از رهایی دانه‌های گرده دیواره سلول‌های لایه مکانیکی دچار ضخیم‌شدگی فیبری می‌شود. این لایه با از دست دادن آب در باز شدن بساک نقش دارد. سلول‌های این لایه در امتداد ناحیه شکوفایی دیواره نازک دارند (Batygina, 2002). در گلابی شکاف‌های طولی (stomium) بین کیسه‌های گرده هر لوب بساک ایجاد می‌شود. سلول‌های اپیدرمی این ناحیه در مقایسه با سایر سلول‌های اپیدرمی کوچک‌ترند و به راحتی از یکدیگر جدا می‌شوند. علاوه بر گلابی ضخیم‌شدگی‌های فیبری در گونه‌های دیگر خانواده Rosaceae نیز گزارش شده است (Cetinbas and

ارقام نشان داد که رقم Bartlett در دماهای مختلف سرعت جوانه‌زنی بیشتری داشت، درحالی‌که ارقام نطنزی و درگری در زمان طولانی‌تری به حداکثر جوانه‌زنی خود رسیدند. این اختلاف می‌تواند به تفاوت‌های ژنتیکی و سازگاری ارقام مختلف با شرایط محیطی مرتبط باشد.

نتیجه‌گیری

بررسی‌ها نشان داد میکروسپورهای تتراد چهار وجهی (تتراهدرال) است. در این گونه تاپتوم از نوع یک لایه‌ای، ترشچی و سلول‌های آن دو هسته‌ای است. دانه‌های گرده بالغ دو سلولی، و تزینات‌ها از نوع striate است. دانه‌های گرده به صورت تکی monad آزاد می‌شوند و اغلب از سلامت کامل برخوردار هستند. پژوهش حاضر، اولین گزارش دقیق در مورد مراحل تکوین بساک و دانه‌گرده در این گونه و جنس آن است و از آنجایی که عدم لقاح یکی از دلایل ریزش گل‌ها در این گونه است، می‌تواند اطلاعات سودمندی برای درک فرآیند تولید مثل جنسی و در نتیجه افزایش محصول به دست دهد. در مجموع، یافته‌های ما نتایج بدست آمده در مورد خانواده گل‌سرخیان که در کتاب‌های کلاسیک رویان‌شناسی شرح داده شده را تأیید می‌کند و علاوه بر آن به داده‌های موجود برای این خانواده می‌افزاید.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر با استفاده از منابع مالی و امکانات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا انجام شده است. نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه برای تأمین اعتبار لازم اعلام می‌دارند.

tricolporate هستند (Chung, 2008; Saffari et al., 2021). دانه‌های گرده بالغ tricolpate و تزینات‌ها از نوع striate است که با نتایج پژوهش‌های پیشین در مورد *P. mahaleb*، گلابی، به و سیب مطابقت دارد (Habibi et al., 2022; Misirli et al., 2017; Radovic et al., 2016; Zamani et al., 2010). البته به‌طور کلی طول دانه‌های گرده در نمونه پژوهش حاضر کمتر از سیب و به است. Evrenosoglu و Misirli با مقایسه الگوهای آگزین گلابی با سیب و به دریافتند که شیارهای سطح گرده در گلابی و سیب مشخص‌تر از به است (Evrenosoglu and Misirli, 2009).

بررسی اثر دما نشان داد که کمترین میزان جوانه‌زنی در بین همه رقم‌ها در دمای ۵°C است. مقدار و سرعت جوانه‌زنی دانه‌گرده به‌طور قابل‌توجهی در دمای ۱۵°C افزایش یافت، درحالی‌که بیشترین میزان در دمای ۲۵°C به ثبت رسید (شکل ۶). این داده‌ها مطابق با نتایج به‌دست‌آمده توسط Deckers و Porrey (۱۹۸۴) است. آنها نیز افزایش جوانه‌زنی دانه‌های گرده گلابی در دماهای بالاتر را گزارش کرده‌اند. البته مشخص شده که علاوه بر دماهای پایین، دماهای بالا در طی رشد بساک نیز می‌تواند بر جوانه‌زنی گرده تأثیر منفی بگذارند (Afif Hedhly, 2011). بر اساس نتایج پژوهش حاضر مناسب‌ترین دما برای جوانه‌زنی ۲۵°C است. این یافته با نتایج Vasilakakis و Porlingis (۱۹۸۵) مطابقت دارد. بر اساس نتایج آنها تنش گرمایی نیز منجر به کاهش جوانه‌زنی می‌گردد. در ضمن نتایج ما با مطالعه Radovic که جوانه‌زنی چهار رقم گلابی را در سه دمای ۸°C، ۱۶°C و ۲۴°C در شرایط In vitro بررسی و بیشترین مقدار جوانه‌زنی را در دمای ۲۴°C و سپس در ۱۶°C گزارش کرده بود همسو است (Radovic et al., 2016).

در مجموع، یک اثر دو سویه ژنوتیپ و دما در محدوده ۴-۱ ساعت وجود دارد که نشان می‌دهد سه ژنوتیپ به‌طور یکنواخت به تغییرات دما پاسخ نمی‌دهند. همچنین، مقایسه بین

منابع

- منیعی، عباسعلی (۱۳۷۹). گلابی و به و پرورش آنها. انتشارات فنی ایران، تهران.
- Arzani, K. (2002). "The position of pear breeding and culture in iran: Introduction of some asian pear (*Pyrus Serotina* Rehd.) cultivars." *Acta Horticulturae*, 587, 167-173.
- Baozhong, H., Guiqin, L., & Mingzhu, G. (1997). Development of male-microspore and male-femalegametophyte

- of the *Prunus armeniaca* L. *Journal of Northeast Agricultural University*, 02. http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotat-DBDN702.011.htm
- Batygina, T. B. (2002). Embryology of Flowering Plants: Terminology and Concepts, Vol. 1: Generative Organs of Flower. CRC Press, Boca Raton.
- Bell, R. L. (1991). Pears (*Pyrus*). *Acta Horticulturae*, 290(290), 657-700.
- Bhat, Z. A., Dhillon, W. S., Shafi, R. H. S., Rather, J. A., Mir, A. H., Shafi, W., Rashid, R. H., Bhat, J. A., Rather, T. R., & Wani, T. A. (2012). Influence of storage temperature on viability and in vitro germination capacity of pear (*Pyrus* spp.) pollen. *The Journal of Agricultural Science*, 4(11), 128. <https://doi.org/10.5539/JAS.V4N11P128>
- Browicz, K. (1993). Conspect and chorology of the genus *Pyrus* L. *Arbor Ko'rnickie*, 38, 17-33.
- Calic, D., Milojevic, J., Belic, M., Miletic, R., & Zdravkovic-Korac, S. (2021). Impact of storage temperature on pollen viability and germinability of four serbian autochthon apple cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 12, 709231. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.709231>
- Cerovic, R., Aksic, M. F., Dordevic, M., & Meland, M. (2020). Functionality of embryo sacs in pear cultivars 'Ingeborg' and 'Celina' as related to fruit set under Nordic climate. *Plants*, 9(12), 1716. <https://doi.org/10.3390/plants9121716>
- Cetinbas, A. & Unal, M. (2015). Developmental and cytochemical features of male reproductive organ in *Crataegus tanacetifolia* (Lam.) Pers. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(2), 507-514.
- Chagas, E. A., Pio, R., Chagas, P. C., Pasqual, M., & Bettiol Neto, J. E. (2010). Composicao do meio de cultura e condicoes ambientais para germinacao de graos de polen de porta-enxertos de pereira. *Ciencia Rural*, 40(2), 261-266.
- Chagne, D., Crowhurst, R. N., Pindo, M., Thrimawithana, A., Deng, C., Ireland, H., Fiers, M., Dzierzon, H., Cestaro, A., Fontana, P., Bianco, L., Lu, A., Storey, R., Knabel, M., Saeed, M., Montanari, S., Kim, Y. K., Nicolini, D., Larger, S., ...& Velasco, R. (2014). The draft genome sequence of European pear (*Pyrus communis* L. 'Bartlett'). *Plos One*, 9(4), e92644. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092644>
- Chehregani, A., Majde, A., Moin, M., Gholami, M., Shariatzadeh, M. A., & Nassiri, H. (2004). Increasing allergy potency of *Zinnia* pollen grains in polluted areas. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58(2), 267-272. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.12.004>
- Chehregani, A., Malayeri, B., & Yousefi, N. (2009). Developmental stages of ovule and megagametophyte in *Chenopodium botrys* L. (Chenopodiaceae). *Turkish Journal of Botany*, 33(2), 75-81. <https://doi.org/10.3906/bot-0805-20>
- Chen, B., Wang, C., Tian, Y., Chu, Q., & Hu, C. (2015). Anatomical characteristics of young stems and mature leaves of dwarf pear. *Scientia Horticulturae*, 186, 172-179. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.025>
- Cheng, X., Cai, Y., & Zhang, J. (2019). Stone cell development in pear. In: Secondary Metabolism and Fruit Quality (eds. Gong, Y., Xu, Z. and Zhao, F.) Pp. 201-225. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11048-2_11
- Chung, K. S. (2008). A systematic study of genus *Agrimonia* (Rosaceae). PhD Thesis, Oklahoma University, Oklahoma, USA.
- Dalalbashi, A. A. Y., & Alhatem, J. Y. (2020). Morphological and anatomical study of some Italian pear leaves (*Pyrus communis* L.) cultivated in Iraq. In: *AIP Conference Proceedings*, 2213.
- Deckers, T., & Porrey, W. (1984). Influence of the temperature on pollen germination of different cultivars of apple and pear: Trials in vitro. *Acta Horticulturae*, 149, 123-130. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1984.149.15>
- Evrenosoglu, Y., & Misirli, A. (2009). Investigations on the pollen morphology of some fruit species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33(2), 181-190.
- FAO. (2024). Faostat. Available online at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Accessed 4 April 2024
- Feng, Y., Cai, Y., Zhang, X., Gao, T., Mu, X., & Liang, C. L. (2016). Microsporogenesis and male gametophyte development in *Prunus mahaleb* Linn. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 91(5), 514-519. <https://doi.org/10.1080/14620316.2016.1178079>
- Gao, F. (1998). *Exochorda*: Five species or one? A biosystematic study of the Rosaceous genus *Exochorda*. PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, China.
- Habibi, M., Attar, F., & Falahati Anbaran, M. (2022). Taxonomic importance of pollen micromorphology in *Prunus* L. subgenus *Cerasus* Pers. (Rosaceae) from Iran. *The Iranian Journal of Botany*, 28(2), 96-112. doi: 10.22092/ijb.2022.128196
- Hedhly, A., Hormaza, J. I., & Herrero, M. (2005). The effect of temperature on pollen germination, pollen tube growth, and stigmatic receptivity in peach. *Plant Biology*, 7(5), 476-483.
- Hedhly, A. (2011). Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations. *Environmental and Experimental Botany*, 74(1), 9-16.
- Hollender, C. A., Geretz, A. C., Slovin, J. P., & Liu, Z. (2012). Flower and early fruit development in a diploid strawberry, *Fragaria vesca*. *Planta*, 235(6), 1123-1139. <https://doi.org/10.1007/s00425-011-1562-1>
- Jacquemart, A. L., Michotte-Van der Aa, A., & Raspe, O. (2006). Compatibility and pollinator efficiency tests on *Pyrus*

- communis* L. cv. 'Conference'. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(5), 827-830. <https://doi.org/10.1080/14620316.2006.11512145>
- Johri, B. M., Ambegaokar, K. B., & Srivastava, P. S. (1992). Comparative Embryology of Angiosperms (Vols. 1–2). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-76395-3>
- Kaufmane, E., & Rumpunen, K. (2002). Sporogenesis and gametophyte development in *Chaenomeles japonica* (Japanese quince). *Scientia Horticulturae*, 94(3-4), 241-249. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(01\)00370-3](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(01)00370-3)
- Lei, X., & Liu, B. (2020). Tapetum-dependent male meiosis progression in plants: Increasing evidence emerges. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1667. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01667>
- Leszczuk, A., Domaciuk, M., & Szczuka, E. (2018). Unique features of the female gametophyte development of strawberry *Fragaria* × *ananassa* Duch. *Scientia Horticulturae*, 234, 201-209. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.030>
- Li, J., Zhang, M., Li, X., Khan, A., Kumar, S., Allan, A. C., Lin-Wang, K., Espley, R. V., Wang, C., Wang, R., Xue, C., Yao, G., Qin, M., Sun, M., Tegtmeier, R., Liu, H., Wei, W., Ming, M., Zhang, S., Zhao, K., Song, B., Ni, J., An, J., Korban, S. S., & Wu, J. (2022). Pear genetics: Recent advances, new prospects, and a roadmap for the future. *Horticulture Research*, 9, uhab040. <https://doi.org/10.1093/hr/uhab040>
- Liu, L., Liu, Z., Han, H., Qiao, B., Li, Y., He, X., & Liu, Y. (2023). Effect of pre-germination temperature regime on pollen germination and fruit set in pear, *Pyrus bretschneideri*. *Horticulturae*, 9(10), 1151. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9101151>
- Monzon, V. H., Bosch, J., & Retana, J. (2004). Foraging behavior and pollinating effectiveness of *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) on 'Comice' pear. *Apidologie*, 35(6), 575-585. <https://doi.org/10.1051/apido:2004055>
- Motyleva, S., Brindza, J., & Kulikov, I. (2017). The morphology of pollen grains of the some species of Rosaceae Juss. family. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, (1). Retrieved from <https://agrobiodiversity.uniag.sk/scientificpapers/article/view/98>
- Murphy, K. M. (2015). Sub-cellular characterization of the pre-meiotic maize anther: An analysis of cell wall components, chloroplasts, and reactive oxygen species in somatic tissues. PhD Thesis, Stanford University, California, USA.
- Neilsen, D. (2005). Fundamentals of temperate zone tree fruit production. *Tree Physiology*, 25(12), 1571-1572. <https://doi.org/10.1093/treephys/25.12.1571>
- Pacini, E., & Franchi, G. G. (1993). Role of the tapetum in pollen and spore dispersal. *Plant Systematics and Evolution*, 7(Suppl.), 1-11. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6661-1_1
- Pacini, E., Franchi, G. G., & Hesse, M. (1985). The tapetum: Its form, function, and possible phylogeny in Embryophyta. *Plant Systematics and Evolution*, 149(3-4), 155-185. <https://doi.org/10.1007/BF00983304>
- Quinet, M., Warzee, M., Vanderplanck, M., Michez, D., Lognay, G., & Jacquemart, A. L. (2016). Do floral resources influence pollination rates and subsequent fruit set in pear (*Pyrus communis* L.) and apple (*Malus* × *domestica* Borkh) cultivars? *European Journal of Agronomy*, 77, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.04.001>
- Quinet, M., & Wesel, J. P. (2019). Botany and taxonomy of Pear. In: The Pear Genome (ed. Korban, S. S.) Pp. 1-33. Springer, Cham, Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11048-2_1
- Radovic, A., Nikolic, D., Milatovic, D., Durovic, D., & Trajkovic, J. (2016). Investigation of pollen morphological characteristics in some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) cultivars. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40(3), 441-449. <https://doi.org/10.3906/tar-1511-76>
- Reinoso, H., Luna, V., Pharis, R. P., & Bottini, R. (2002). Dormancy in peach (*Prunus persica*) flower buds. V. Anatomy of bud development in relation to phenological stage. *Canadian Journal of Botany*, 80(6), 656-663. <https://doi.org/10.1139/b02-052>
- Saffari, P., Majd, A., Jonoubi, P., & Najafi, F. (2021). Study on the reproductive organs development and embryological features of *Agrimonia eupatoria* L. *Botany Letters*, 168(2), 270-282. <https://doi.org/10.1080/23818107.2020.1866071>
- Sakamoto, D., Hayama, H., Ito, A., Kashimura, Y., Moriguchi, T., & Nakamura, Y. (2009). Spray pollination as a labor-saving pollination system in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* (Burm.f.) Nakai): Development of the suspension medium. *Scientia Horticulturae*, 119(3), 280-285. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.08.009>
- Sassa, H., Hirano, H., & Ikehashi, H. (1992). Self-incompatibility-related RNases in styles of Japanese pear (*Pyrus serotina* Rehd.). *Plant and Cell Physiology*, 33(6), 811-814. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078010>
- Shevchenko, S. V., & Kuzmina, T. N. (2018). Some features of embryology of *Rosa spinosissima* L., *R. canina* L., and *R. × damascena* Mill. in intact and virus-infected plants. *Agricultural Biology*, 53(3), 624-633. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2018.3.624eng>
- Simionca Marcasan, L. I., Pop, R., Somsai, P. A., Oltean, I., Popa, S., Sestras, A. F., Militaru, M., Botu, M., & Sestras, R. E. (2023). Comparative evaluation of *Pyrus* species to identify possible resources of interest in pear breeding. *Agronomy*, 13(5), 1264. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051264>

- Stant, M. Y., & Fahn, A. (1975). Plant anatomy. *Kew Bulletin*, 30(2), 423. <https://doi.org/10.2307/4103170>
- van der Linde, K., & Walbot, V. (2019). Pre-meiotic anther development. In *Current Topics in Developmental Biology* Pp. 239-256. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2018.11.001>
- Vasilakakis, M., & Porlingis, I. C. (1985). Effect of temperature on pollen germination, pollen tube growth, effective pollination period, and fruit set of pear. *HortScience*, 20(4), 733-735. <https://doi.org/10.21273/hortsci.20.4.733>
- Watson, L., & Dallwitz, M. J. (1991). "The families of Angiosperms: Automated descriptions, with interactive identification and information retrieval. *Australian Systematic Botany*, 4(4), 681.
- Weinbaum, S. A., Parfitt, D. E., & Polito, V. S. (1984). Differential cold sensitivity of pollen grain germination in two *Prunus* species. *Euphytica*, 33(2), 419-426. <https://doi.org/10.1007/BF00021139>
- Wu, J., Wang, Y., Xu, J., Korban, S. S., Fei, Z., Tao, S., ... & Zhang, S. (2018). Diversification and independent domestication of Asian and European pears. *Genome Biology*, 19(1), 179. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1452-y>
- Xin, H., Chu, Q., Tao, S., & Cao, Y. (2000). Megasporogenesis occurrence and female gametophyte formation of *Potentilla chinensis* Ser. *Acta Agriculturae Universitatis Henanensis*, 34(3), 280-282. <https://europepmc.org/abstract/cba/340032>
- Yoo, J., Choi, C., Kwon, J. G., & Kang, I. K. (2022). Pollen germination characteristics under temperature and relative humidity treatments for artificial pollination of apples. *Horticultural Science and Technology*, 40(5), 496-503. <https://doi.org/10.7235/HORT.20220044>
- Zamani, A., Attar, F., & Maroofi, H. (2010). Pollen morphology of the genus *Pyrus* (Rosaceae) in Iran. *Acta Biologica Szegediensis*, 54(1), 51-56. <https://abs.bibl.u-szeged.hu/index.php/abs/article/view/2686>
- Zhang, J., Li, J., Xue, C., Wang, R., Zhang, M., Qi, K., Fan, J., Hu, H., Zhang, S., & Wu, J. (2021). The variation of stone cell content in 236 germplasms of sand pear (*Pyrus pyrifolia*) and identification of related candidate genes. *Horticultural Plant Journal*, 7(2), 108-116. <https://doi.org/10.1016/J.HPJ.2020.09.003>
- Zhang, L., Luo, H., Zhao, Y., Chen, X., Huang, Y., Yan, S., Li, S., Liu, M., Huang, W., Zhang, X., & Jin, W. (2018). Maize male sterile 33 encodes a putative glycerol-3-phosphate acyltransferase that mediates anther cuticle formation and microspore development. *BMC Plant Biology*, 18(1), 318. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1543-7>
- Zheng, P., Zhang, M., Fang, X., Tang, L., Wang, Z., & Shi, F. (2022). Analysis of the fruit quality of pear (*Pyrus* spp.) using widely targeted metabolomics. *Foods*, 11(10), 1440. <https://doi.org/10.3390/foods11101440>
- Zhu, T., Li, Z., An, X., Long, Y., Xue, X., Xie, K., Ma, B., Zhang, D., Guan, Y., Niu, C., Dong, Z., Hou, Q., Zhao, L., Wu, S., Li, J., Jin, W., & Wan, X. (2020). Normal structure and function of endothecium chloroplasts maintained by ZmMs33-mediated lipid biosynthesis in tapetal cells are critical for anther development in maize. *Molecular Plant*, 13(11), 1624-1643. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.09.013>
- Zinn, K. E., Tunc-Ozdemir, M., & Harper, J. F. (2010). Temperature stress and plant sexual reproduction: Uncovering the weakest links. *Journal of Experimental Botany*, 61(7), 1959-1968. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq053>

Anther and pollen grain development in Bartlett cultivar and the effect of temperature on pollen grain germination of Bartlett, Natanzi and Dargazi cultivars in pear (*Pyrus communis* L.)

Mohammad Doostali¹ and Abdolkarim Chehregani Rad^{1*}, Saeed Afshar²

¹ Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

² Department of Molecular Medicine, Faculty of Medicine, Medicinal Science University of Hamedan, Hamedan, Iran

(Received: 2024/06/27, Accepted: 2024/10/15)

Abstract

European pear (*Pyrus communis* L.) belonged to Rosaceae family and Maleae subfamily. To expand our knowledge about this species, the developmental stages of anthers and pollen grains of the Bartlett cultivar were investigated with common histological methods such as fixation in FAA, dehydration, embedding in paraffin, sectioning with a microtome, and hematoxylin-eosin staining. The findings showed that the anthers are bitheca and tetrasporangiate. The developmental pattern of the anther wall follows the basic type. Cytokinesis of microspores is simultaneous, and the arrangement of microspores is tetrahedral. The tapetum is of glandular type with a single layer, and the tapetal cells are binucleate. Mature pollen grains are two-celled, tricolpate, and exine sculpturing is striate. The anthesis of the anther is introse and takes place through longitudinal slits, and the pollen grains are released as monad. To investigate the effect of temperature on the germination of pollen grains, three cultivars Bartlett, Natanzi and Dargazi were used. An increase in temperature accelerates the germination rate of pollen grains in all three cultivars. At 5°C, the germination percentage was generally lower in all cultivars. In all three cultivars, pollen grain germination was zero at both 0 and 1 hour. As time passed, particularly at 2 and 4 hours, the percentage of germination increased significantly. However, after 4 hours, the germination rate in all three cultivars showed only a slight increase. Pollen grains at 5°C exhibited lower germination compared to other temperatures. These results indicate that 5°C is not a suitable temperature for pollen germination in these cultivars, while 25°C appears to be the optimal germination temperature for all cultivars.

Keywords: Anther, Development, Germination, Pollen grain, Pear (*Pyrus communis* L.)

Corresponding author, Email: Chehregani@basu.ac.ir