

ویژگی‌های تنژگی و ریخت‌شناسی دانه گرده برخی از نژادگان‌های نر خرما

(*Phoenix dactylifera* L.) در استان خوزستان

Pollen Germination and Morphologic Characteristics of Some Male Date Palm Genotypes (*Phoenix dactylifera* L.) in Khuzestan Province

نسیم محمدی^۱، نوراله معلمی^۱، اسماعیل خالقی^{۱*}، خسرو مهدیخانلو^۲، موسی موسوی^۱

۱. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (Khaleghi@scu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۳

چکیده

در این پژوهش، آزمایشی به منظور بررسی ویژگی‌های تنژگی و ریخت‌شناسی ۲۱ نژادگان نر نخل خرما در استان خوزستان به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام و درصد زنده‌مانی دانه‌های گرده از طریق آزمون رنگ‌آمیزی استوکارمن و درصد تنژگی با استفاده از محیط کشت تغییر یافته بروبیکر و کوک (MBK) بررسی شد. ویژگی‌های ریخت‌شناسی دانه گرده شامل محور قطبی (P)، قطر استوایی (E)، نسبت P/E به کمک میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)، مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، میانگین درصد زنده‌مانی و درصد تنژگی دانه گرده نژادگان‌ها به ترتیب بین ۷۰/۳۳ تا ۹۹ درصد و ۱۱/۳۳ تا ۹۶/۳۳ درصد بود. همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که نژادگان‌های مورد مطالعه، تنوع بیش‌تری را در درصد تنژگی نسبت به درصد زنده‌مانی گرده نشان دادند. علاوه بر این، دانه گرده نژادگان‌های مختلف از نظر ابعاد (محور قطبی و استوایی) و نسبت P/E تفاوت معنی‌داری داشتند. مطالعه میکروگراف‌های میکروسکوپ الکترونی نشان داد که دانه‌های گرده در همه نژادگان‌های مورد مطالعه، منفرد، کشیده، تک شیاره و دارای آراستارهای مشبک و نامنظم بودند. بر اساس تجزیه خوشه‌ای، نژادگان‌های خرما مورد مطالعه در چهار گروه اصلی طبقه‌بندی شدند و نژادگان‌های همانام از مناطق مختلف در یک گروه قرار نگرفتند. این مسئله حاکی از درست بودن پیش فرض این مطالعه مبنی بر متفاوت بودن نژادگان‌های همانام و نادرست بودن نام‌گذاری سنتی آن‌ها توسط کشاورزان بود. یافته‌ها نشان داد که پارامترهای ریخت‌شناسی را می‌توان برای تشخیص گرده نژادگان‌های مختلف نخل خرما و نیز مطالعه روابط خویشاوندی آن‌ها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پوسته خارجی دانه گرده، درصد زنده‌مانی، میکروسکوپ الکترونی نگاره، میکروگراف.

مقدمه

دانه‌های گرده خرما (*Phoenix dactylifera* L.) علاوه بر نقش تولید مثلی، به دلیل محتوای قابل توجهی از اسیدهای چرب غیر اشباع، فلاونوئیدها، ویتامین‌ها، آمینواسیدها، ساپونین‌ها، استرول‌ها و هورمون‌های جنسی، دارای فواید تغذیه‌ای بوده و برای ارتقای سلامتی به عنوان داروی طبیعی و موثر در درمان بیماری‌های ناباروری مردان و زنان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Abdi et al., 2017). گرده نخل خرما، نقش بسیار مهمی در کیفیت و کمیت محصول خرما دارد، زیرا ساختار ژنتیکی و کیفیت دانه‌گرده بر میوه‌نشینی، رشد، عملکرد، زمان رسیدن و ترکیب بیوشیمیایی میوه خرما تأثیرگذار است، که این ویژگی تحت عنوان فرادرگذاری^۱ شناخته می‌شود (Swingle, 1928). ویژگی‌های دانه گرده، بیانی از ژنوم گرده و گیاه مادری است که

می‌تواند در شناسایی جنس‌ها، گونه‌ها و حتی ارقام یک گونه گیاهی مورد استفاده قرار گیرد. مطالعه کرده تمام جنبه‌های ساختاری و تزئینات پوشش خارجی دانه کرده را در بر می‌گیرد. ریخت‌شناسی دانه کرده با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره (SEM)^۱، برای تجسم ویژگی‌های کلی دانه کرده مانند ابعاد، اندازه، تقارن، شکل، ویژگی‌های شیارها و منافذ (شکل، موقعیت و تعداد آن‌ها) و ویژگی آراستارهای پوسته خارجی دانه کرده مورد مطالعه قرار می‌گیرد (Ghazaian *et al.*, 2016; Dar *et al.*, 2020). پوسته خارجی دانه کرده نخل خرما دارای یک روزنه برای رشد و خروج لوله کرده و منافذ زیادی با اندازه‌های مختلف است که سطح آن را تزئین می‌کنند. این منافذ همچنین اجازه تبادل مواد مختلف با محیط بیرون کرده را فراهم می‌کنند (Al-Najm *et al.*, 2021). دانه کرده طبق طبقه‌بندی پیشنهاد شده توسط ارتمن (۱۹۶۶) یکی از این پنج کلاس شکلی را دارد: کروی پهن^۲ (۰/۸۹-۰/۹۹)، کروی^۳ (۱/۰۰)، کروی-کشیده^۴ (۱/۱۴-۱/۰۱)، بیضوی^۵ (۱/۳۳-۱/۱۵) و کشیده^۶ یا دوکی (۲/۰۰-۱/۳۴) (جدول ۱) (Erdtman, 1966). مطالعه فراساختار دانه کرده توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره در سیزده گونه از درختان میوه شامل سیب، گلابی، به، زردآلو، آلو، هلو، بادام، شاه بلوط، گردو، گیلان، آلبالو، انار، و زیتون، تفاوت‌هایی را در اندازه، شکل و الگوی آراستارهای سطح پوسته خارجی دانه کرده نشان داده است (Swingle, 1928; Talaie and Imani, 1997; Zhou *et al.*, 2000; Javady and Arzani, 2001; Evrenosoğlu and Misirli, 2009; Varasteh and Arzani, 2009; Nikolić and Milatović, 2013; Nikolić and Milatović, 2015; Ghazaian *et al.*, 2016; Khaleghi *et al.*, 2019; Dar *et al.*, 2020).

بررسی‌ها حاکی از آن است که الگوی پوسته خارجی دانه کرده از نظر ژنتیکی برای گونه‌های مختلف پایدار می‌باشد، بر این اساس، می‌توان از این ویژگی‌ها برای شناسایی نژادگان‌های مختلف یک گونه گیاهی در نمونه‌های تازه و فسیلی کرده، استفاده کرد (Fogle, 1977; Wang and Dobritsa, 2018). تفاوت‌های فراساختاری دانه کرده بیست رقم بادام از سه خاستگاه ایتالیا، فرانسه و روسیه نشان داده که فراساختار دانه کرده هر نژادگان ثابت و پایدار است، زیرا ریخت‌شناسی دانه کرده بادام تحت تاثیر پایه و پیوندک، شرایط آبیاری یا موقعیت جغرافیایی قرار نگرفته و نژادگان‌های یکسان در شرایط متفاوت اکولوژیکی ریخت‌شناسی کرده مشابه داشتند (Mulas *et al.*, 1988). نتایج بررسی که به منظور شناسایی پایه‌های نر مناسب برای اهداف به‌نژادی بر روی دانه کرده ۶۱ نژادگان نخل خرما با استفاده از آزمون زنده‌مانی و تنژگی و تکنیک میکروسکوپ الکترونی نگاره صورت گرفته است، نشان داده که دانه کرده تمام نخل‌های نر مورد بررسی، منفرد^۷، کشیده^۸، دارای پوسته خارجی مشبک^۹ با منافذ نامنظم و نیم دایره‌ای شکل و با یک شیار عمیق در طول کرده^{۱۰} بودند. همچنین بررسی میکروگراف‌های حاصل نشان داد که نژادگان‌های مورد بررسی، از نظر اندازه و فراوانی منافذ پوسته خارجی متفاوت می‌باشند (Soliman and Al-Obeed, 2013). نتایج ریخت‌شناسی دانه‌های کرده ۳۵۰ گونه مختلف از تیره پالماسه^{۱۱} بیانگر وجود گروه‌های متنوعی از دانه‌های کرده از لحاظ اندازه، شکل و الگوی پوسته خارجی بود. همچنین گونه‌های مختلف، طیف وسیعی از اندازه دانه کرده داشته و محور قطبی آنها از ۲۰ تا ۷۵ میکرومتر متغیر بود. شکل دانه‌های کرده در اعضای این خانواده اغلب بیضوی، ولی گاهی اوقات، گرد مثلثی یا کروی گزارش شده است. همچنین الگوی پوسته خارجی، تنوع زیادی نشان داده که غالب‌ترین الگوی آن مشبک بوده است (Sowunmi, 1972). مطالعه ویژگی‌های ریخت‌شناسی ۱۴ گونه از تیره آراسه^{۱۲} توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی نگاره، نشان داده که دانه کرده در تمام گونه‌های مورد مطالعه، بیضوی و دارای یک شیار قطبی بود. با این حال، تفاوت در ابعاد کرده، ضخامت دیواره کرده^{۱۳} و الگوی پوسته خارجی قابل مشاهده و از این ویژگی‌ها می‌توان برای درک بهتر سیستماتیک گونه‌های این خانواده بهره برد (Rashid *et al.*, 2017). یافته‌های پژوهش مقایسه ریخت‌شناسی دانه‌های کرده ۱۱ نژادگان نخل خرما با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داده که دانه کرده همه نژادگان‌ها منفرد، دوکی شکل و کشیده بوده و الگوی پوسته خارجی آن‌ها مشبک و نامنظم بود. دانه‌های کرده از نظر اندازه و وزن، فراوانی منافذ، الگوهای پوسته خارجی، درصد تنژگی در نخل‌های نر مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری را نشان داده‌اند. در نهایت پژوهشگران اثبات کرده‌اند که مطالعه صفات ریخت‌شناسی دانه کرده، می‌تواند به شناسایی نخل‌های نر کمک کند (Salomon-

۱- Scanning Electron Microscopy	۲- Oblate-Spheroidal	۳- Spheroidal	۴- Prolate-Spheroidal
۵- Subprolate	۶- Prolate	۷- Monad	۸- Prolate
۹- Reticulate	۱۰- Monoculate	۱۱- Palmaceae	۱۲- Arecaceae
۱۳- Muri			

(Torres et al., 2021). همچنین در پژوهشی به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی دانه گرده و گل آذین هشت رقم نخل خرما گزارش شده است که ارقام مورد مطالعه از نظر ویژگی‌های دانه گرده q شامل محور قطبی، قطر استوایی، وزن، تعداد منفذ روی پوسته خارجی و درصد تنژگی، همچنین ویژگی‌های گل آذین تفاوت داشتند. علاوه بر این، مشخص شده که ویژگی‌های دانه گرده و گل آذین در ارقام مختلف نخل خرما عموماً به صورت ژنتیکی کنترل می‌شود و نشان دهنده ویژگی خاص هر رقم می‌باشد (Shahhosseini and Shahsavari, 2017)، هدف از این پژوهش بررسی تفاوت ۲۱ نژادگان نخل نر خرمای استان خوزستان از نظر ریخت‌شناسی و ویژگی‌های تنژگی دانه گرده آن‌ها بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با هدف مطالعه ریخت‌شناسی و درصد تنژگی دانه گرده برخی از نژادگان‌های نخل خرمای استان خوزستان در سال‌های ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۱ روی ۲۱ نژادگان در ۵ منطقه اهواز، آبادان، شادگان، ملاثانی و غزویه انجام شد. نژادگان‌های مورد بررسی در این پژوهش عبارت بودند از: نژادگان A (مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان خوزستان، اهواز)، نژادگان B (پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری اهواز)، نر سه خطی، ابوالصیرم، نر سبز پرک، غنمی سفید غزویه، غنمی سبز اهواز، غنمی سبز آبادان، غنمی سبز شادگان، غنمی سبز ملاثانی، غنمی قرمز اهواز، غنمی قرمز آبادان، غنمی قرمز شادگان، غنمی قرمز ملاثانی، خکری اهواز، خکری آبادان، خکری شادگان، خکری ملاثانی، غیبانی اهواز، غیبانی شادگان و غیبانی ملاثانی.

جمع آوری دانه گرده

استخراج دانه‌های گرده به روش سنتی انجام شد. به این منظور، اسپات‌های (چمچمه) هر نژادگان، به طور جداگانه روی ورقه‌های کاغذی در اتاقی با دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۳۰ تا ۴۰ درصد شکافته شد و بعد از ۴۸ ساعت دانه‌های گرده از بساک گل‌های نر به صورت دستی و با تکان دادن رشته‌های گل استخراج شد.

اندازه‌گیری زنده ماننی دانه گرده

در شروع فصل، برای اندازه‌گیری درصد زنده ماننی دانه گرده از روش رنگ‌آمیزی با استوکارمین استفاده شد. به این منظور، مقدار کمی از دانه‌های گرده هر نژادگان روی اسلاید (شامل لام و لامل) قرار گرفته و به آن یک قطره رنگ استوکارمین یک درصد اضافه و به مدت چند ثانیه به آرامی گرم شدند. بعد از آن، اسلایدهای تهیه شده با میکروسکوپ نوری (Olympus U-DA) با بزرگ‌نمایی ۴۰X مورد مشاهده قرار گرفتند و برای هر نمونه، سه تکرار در نظر گرفته شد. دانه‌های گرده قرمز تیره زنده و دانه‌های گرده بدون رنگ و یا دارای رنگ روشن مرده محسوب شدند (Salomon-Torres et al., 2021). به منظور محاسبه درصد زنده ماننی، برای هر تکرار ۱۰۰ عدد دانه گرده به طور تصادفی از چند میدان دید میکروسکوپی شمارش و تعداد دانه‌های گرده زنده آن‌ها یادداشت شد. به منظور تهیه محلول استوکارمین ابتدا یک گرم پودر کارمن در ۴۵ میلی‌لیتر اسید استیک خالص حل و با افزودن آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و به مدت ۲ تا ۴ دقیقه جوشانیده شد. محلول حاصل پس از سرد شدن فیلتر شده و ۱ تا ۲ قطره کلرید آهن به آن افزوده شد.

آزمایش تنژگی درون شیشه‌ای دانه گرده

آزمایش تنژگی درون شیشه‌ای دانه گرده بر روی محیط کشت تغییر یافته بروبیکر و کوک (MBK) بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. محیط کشت تغییر یافته بروبیکر و کوک، مناسب‌ترین محیط کشت پایه برای تنژگی گرده نخل خرما به شمار می‌آید (Erdtman, 1966; Fogle, 1977). به این منظور، محیط کشتی شامل ۲۰ درصد سوکروز، ۱ درصد آگار، ۰/۳ گرم در لیتر نیترات کلسیم^۲، ۰/۲ گرم در لیتر سولفات منیزیم^۴، ۰/۱ گرم در لیتر نیترات پتاسیم^۵ و ۵۰ میلی گرم اسید بوریک تهیه شد. پس از تنظیم pH محیط کشت (۷/۵)، آگار به آن اضافه شد (Evrenosoğlu and Misirli, 2009). محیط کشت پس از آماده سازی توسط اتوکلاو استریل شده و بی‌درنگ در زیر دستگاه جریان هوا، درون پتری‌دیش‌های کشت توزیع شد. پس از خنک شدن محیط کشت‌ها در هوای اتاق، روی هر یک از محیط کشت‌ها ۵ میلی گرم از دانه گرده هر نژادگان با کاغذ تکانده شد، و تمامی محیط‌های کشت در شرایط تاریکی و دمای ۲۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت

۱- Spathe ۲- Modified Brewbaker and Kwack ۳- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ۴- $\text{Mg}(\text{SO}_4)$ ۵- $\text{K}(\text{NO}_3)$ ۶- Laminar airflow cabinet

نگهداری شدند. شایان ذکر است که در تمام مراحل کار برای اطمینان از آمیخته نشدن گرده نژادگان‌های مختلف دست‌ها و وسایل مورد استفاده هر بار بوسیله اتانول ۷۰ درصد سترون شدند. پس از ۲۴ ساعت، رشد لوله گرده با پاشیدن محلول اسید استیک ۴۵ درصد بر روی محیط کشت متوقف شده، تنژگی دانه‌های گرده زیر میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی $40\times$ بررسی شد. برای هر نژادگان، سه تکرار و برای هر تکرار ۱۰۰ عدد دانه گرده به طور تصادفی از چند میدان دید میکروسکوپی شمارش و تعداد دانه های گرده جوانه زده یادداشت شد. معیار تنژگی برابر یا بزرگتر بودن طول لوله گرده از قطر گرده در نظر گرفته شد (Furr and Enriquez, 1966; Mortazavi et al., 2010; Rashid et al., 2017; Aasim et al., 2022).

بررسی فراساختار دانه گرده توسط میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM)

از میکروسکوپ الکترونی نگاره برای بررسی ویژگی‌های ریخت شناسی دانه گرده استفاده شد. برای اجتناب از آسیب، چروکیدگی یا فروپاشی نمونه گرده و متعاقباً کاهش کیفیت تصویر میکروگراف، مراحل آماده سازی نمونه‌های گرده بر اساس روش تجربی و با دقت بالا صورت گرفت (Arzani et al., 2005; Kaleghi et al., 2019). ابتدا نمونه هر گرده بر روی یک قطعه کوچک فویل آلومینیومی به مساحت یک سانتی‌متر مربع با دقت و ظرافت غبارپاشی شد. نمونه‌ها پس از آماده‌سازی توسط نوار چسب دو طرفه رسانا و مقاوم در برابر خلأ روی یک نمونه گیر^۱ متصل به یک پایه حامل^۲ نصب شدند. سپس پایه حامل در محفظه خلاء^۳ دستگاه روکش دهنده^۴ (مدل Polaron-SC7620) قرار داده شد. پوشش‌دهی الکتريکی دانه‌های گرده به روش تبخیر در خلاء^۵ از طریق پاشیدن لایه نازکی از ذرات طلا به ضخامت ۲۰۰ آنگستروم بر روی گرده‌ها صورت گرفت. سپس پایه حامل نمونه‌های گرده پوشش‌دهی شده درون محفظه دستگاه میکروسکوپ الکترونی نگاره (مدل Zeiss (LEO) 1455 VP-SEM، ساخت کشور آلمان) قرار داده شد. از دانه‌های گرده در بزرگنمایی‌های ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ برابر استریوسکوپی یا میکروگراف SEM تهیه شد. از هر نژادگان سه دانه گرده برای بررسی شکل، آراستارها، شیار و منافذ سطح پوسته خارجی و ابعاد گرده انتخاب شد. اندازه‌گیری ابعاد گرده شامل طول محور قطبی (P)، طول محور استوایی (E) و تعداد حفره‌های سطح پوسته خارجی با استفاده از نرم‌افزار Image J 1.6.0 انجام شد. برای تعیین شکل دانه گرده، نسبت طول محور قطبی به طول محور استوایی (P/E) محاسبه و از طبقه‌بندی توصیف شده توسط Erdtman (۱۹۶۶) استفاده شد (جدول ۱) (Erdtman, 1966). محور قطبی عبارت است از بزرگ‌ترین فاصله بین دو نقطه آزاد روی سطح دانه گرده و پهنای استوایی عبارت است از کم‌ترین فاصله بین دو نقطه آزاد روی سطح دانه گرده به طوری‌که این خطوط از مرکز دانه گرده بگذرد (Soliman and Al-Obeed, 2013; Mortazavi et al., 2019).

محاسبات آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی داری یک و پنج درصد با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شد. تجزیه کلاستر نژادگان‌ها با استفاده از خصوصیات زنده‌مانی، تنژگی و خصوصیات دانه گرده توسط نرم افزار Rstudio صورت گرفت.

جدول ۱- اندازه و شکل دانه گرده بر اساس طبقه بندی پیشنهادی Erdtman (1966).

Table 1. Pollen grain size and shape based on the classification proposed by Erdtman (1966).

اندازه Size		شکل Shape	
Polar axis محور قطبی (μm)	Class کلاس	P/E	Designation نام
< 10	Minute grain	0.89-0.99	Oblate-Spheroidal
10-25	Small grain	1.00	Spheroidal
25-50	Medium grain	1.01-1.14	Prolate- Spheroidal
50-100	Large grain	1.15-1.33	Subprolate
> 200	Gigantic grain	1.34-2.00	Prolate
		> 2.00	Perprolate

۱- Sample holder ۲- Stage ۳- Vacuum chamber ۴- Spotter coater ۵- Vacuum evaporation

نتایج

درصد زنده مانی و تنژگی دانه گرده

بر اساس نتایج پژوهش، میانگین زنده‌مانی و درصد تنژگی دانه گرده به ترتیب بین ۷۰/۳۳ تا ۹۹/۰۰ درصد و ۱۱/۳۳ تا ۹۶/۳۳ درصد بود (جدول ۲). همچنین نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که نژادگان‌های مورد مطالعه، تنوع بیش‌تری را در درصد تنژگی نسبت به درصد زنده‌مانی گرده نشان دادند (جدول ۲). بر اساس داده‌های جدول ۲، بیش‌ترین درصد زنده‌مانی گرده در نژادگان سه خطی با میانگین ۹۹/۰۰ درصد دیده شد، که با نژادگان‌های غنمی قرمز آبادان، غیبانی شادگان، سبز پرک، غنمی سفید غزاویه و غیبانی اهواز تفاوت معنی‌داری نداشتند و کم‌ترین درصد زنده‌مانی دانه گرده در نژادگان ابوالصریم شادگان (۷۰/۳۳ درصد) مشاهده شد که قبل از آن نژادگان‌های غنمی قرمز شادگان، غنمی سبز شادگان، غنمی قرمز اهواز و غیبانی ملاثانی به ترتیب کم‌ترین میزان زنده مانی دانه گرده را در میان نژادگان‌ها به خود اختصاص دادند.

بیش‌ترین درصد تنژگی در نژادگان غنمی سفید غزاویه و غیبانی اهواز (۹۶/۳۳ درصد) مشاهده شد که با نژادگان‌های، سبز پرک، نژادگان A، غنمی قرمز آبادان، و خکری اهواز تفاوت معنی‌داری نشان نداد. کم‌ترین درصد تنژگی دانه گرده در نژادگان غنمی سبز شادگان (۱۱/۳۳ درصد) مشاهده شد، که بعد از آن با اختلاف معنی دار، غنمی سبز ملاثانی، غنمی قرمز شادگان و ابوالصریم شادگان به ترتیب کم‌ترین درصدهای تنژگی را داشتند.

گرده نژادگان‌های مورد بررسی، تنوع در شکل، ابعاد گرده (محور قطبی (P) و محور استوایی (E))، شاخص P/E نشان دادند. با توجه به نتایج مقایسه میانگین، بیش‌ترین طول محور قطبی مربوط به نژادگان خکری شادگان (۱۸/۱۱ میکرومتر) و کم‌ترین آن مربوط به نژادگان نر سه خطی بود و بیش‌ترین اندازه محور استوایی مربوط به نژادگان غنمی سبز اهواز و کم‌ترین آن مربوط به نژادگان غنمی قرمز اهواز بود (جدول ۳).

از سویی دیگر، شاخص نسبت P/E دانه گرده که تعیین کننده شکل دانه گرده است از ۱/۵۳ در نژادگان نر سه خطی تا ۲/۳۳ در نژادگان خکری شادگان متغیر بود که بر اساس طبقه‌بندی پیشنهاد شده توسط Erdtman (۱۹۶۶)، از نظر شکل دانه گرده بین نژادگان تفاوت وجود داشت، به گونه‌ای که در نژادگان نژادگان A، ابوالصریم شادگان، سبز پرک، غنمی سبز شادگان، غنمی سبز ملاثانی و غنمی قرمز آبادان، Perprolate (بسیار کشیده) بود و در نژادگان نر سه خطی، غنمی سفید غزاویه، غنمی سبز اهواز، غنمی سبز آبادان، غنمی قرمز آبادان، غنمی قرمز شادگان، خکری قرمز آبادان، غیبانی اهواز، غیبانی شادگان و غیبانی ملاثانی Prolate (کشیده) بود (جدول ۳). علاوه بر این، دانه گرده در همه نژادگان‌ها منفرد، کشیده، تک شیاره با اندازه کوچک در محدوده ۱۲ تا ۱۸ میکرومتر و دارای پوسته خارجی مشبک بود (شکل ۱ و ۲) (۸).

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات تنژگی دانه گرده ۲۱ نژادگان نر نخل خرماي استان خوزستان.

Table 2. Mean comparison of germination traits of pollen of 21 male date palm genotypes of Khuzestan province.

Genotype نژادگان	%Viability ٪ زنده مانی	%Germination P. ٪ تنژگی
A نژادگان A	95.33 ± 0.67 bcd†	93.33 ± 0.67 ab
Genotype A		
B نژادگان B	97.00 ± 0.58 abc	83.00 ± 0.58 cd
Genotype B		
نر سه خطی	99.00 ± 1.00 a	89.67 ± 0.88 abc
Nare Se khatti		
ابوالصریم شادگان	70.33 ± 0.67i	49.33 ± 0.88g
Abulsarim Shadegan		
سبز پرک	98.67 ± 0.67 ab	96.00 ± 0.58 a
Sabze Parak		
غنمی سفید غزاویه	98.67 ± 0.67 ab	96.33 ± 0.33a
Qanami Sefid Qazzavie		
غنمی سبز اهواز	97.67 ± 0.33abc	56.00 ± 0.58 g
Qanami Sabz Ahvaz		

84.33 ± 0.58 cd	94.67 ± 0.33cd	غنمی سبز آبادان Qanami Sabz Abadan
11.33 ± 0.88 i	85.33 ± 0.67 g	غنمی سبز شادگان Qanami Sabz Shadegan
35.33 ± 0.88 h	89.00 ± 1.00f	غنمی سبز ملاثانی Qanami Sabz mollasani
61.67 ± 0.88 ef	85.33 ± 0.88g	غنمی قرمز اهواز Qanami Qermez Ahvaz
92.33 ± 0.88 ab	99.00 ± 0.58a	غنمی قرمز آبادان Qanami Qermez Abadan
35.67 ± 0.88 h	80.00 ± 0.58h	غنمی قرمز شادگان Qanami Qermez Shadegan
83.67 ± 0.67 cd	90.33 ± 0.67 ef	غنمی قرمز ملاثانی Qanami Qermez Mollasani
90.00 ± 0.58 abc	97.33 ± 0.67abc	خکری اهواز Khekri Ahvaz
78.67 ± 0.67 d	93.00 ± 0.58de	خکری آبادان Khekri Abadan
87.67 ± 0.88 bc	91.33 ± 0.33 ef	خکری شادگان Khekri Shadegan
69.00 ± 0.58 e	91.33 ± 0.67 ef	خکری ملاثانی Khekri Mollasani
96.33 ± 0.33 a	97.33 ± 0.67 abc	غیبانی اهواز Qeybani Ahvaz
64.33 ± 0.88 e	98.67 ± 0.33ab	غیبانی شادگان Qeybani Shadegan
82.67 ± 0.67 cd	85.67 ± 0.67 g	غیبانی ملاثانی Qeybani Mollasani

†حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

† Mean± SE. The same letters in each column are not significantly different at the 5% probability level.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات ریخت‌شناسی دانه گرده ۲۱ نژادگان نر نخل خرما استان خوزستان.

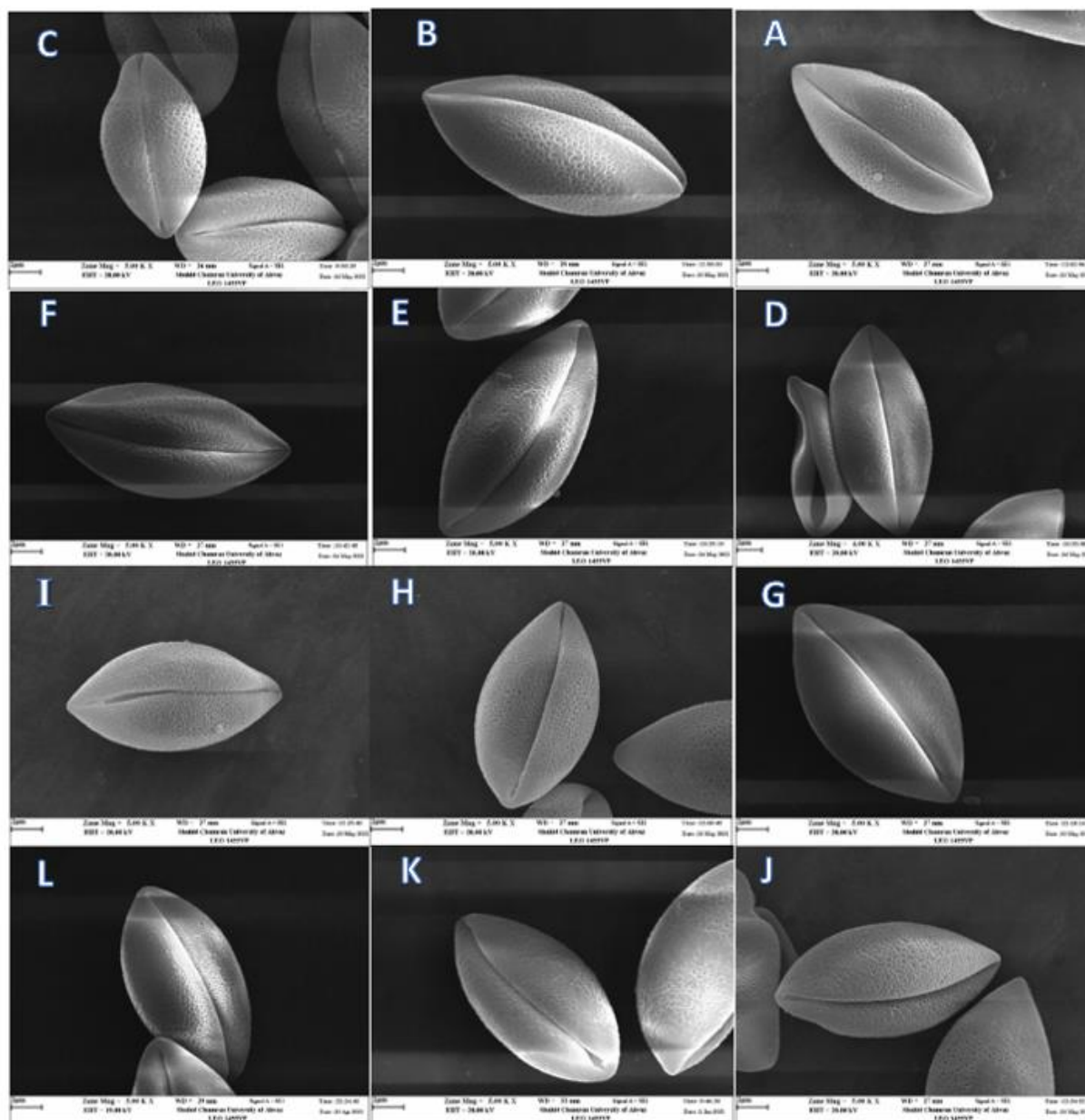
Table 3. Mean comparison of morphological traits of pollen of 21 male date palm genotypes of Khuzestan province.

Shape شکل	P/E	Equatorial axis (μm)(E) محور استوایی	Polar axis (μm)(P) محور قطبی	Genotype نژادگان
Perprolate	2.10 ± 0.08 b	8.20 ± 0.24efgh	17.22 ± 0.38bc	نژادگان A Genotype A
Prolate	± 0.06bcdef 1.98	8.25 ± 0.13efgh	16.32 ± 0.28fgh	نژادگان B Genotype B
Prolate	1.53 ± 0.07 h	8.23 ± 0.12efgh	12.61 ± 0.42k	نر سه خطی Nare Se khatti
Perprolate	2.09 ± 0.02 bc	8.21 ± 0.06efgh	17.17 ± 0.17bcd	ابوالصریم شادگان Abulsarim
Perprolate	± 0.03bcdef 2.00	8.28 ± 0.10defgh	16.55 ± 0.05efg	سبز پرک Sabze Parak
Prolate	± 0.02cdef 1.97	8.07 ± 0.18ghi	15.84 ± 0.21 hi	غنمی سفید غزاویه Qannami Sefid Qazzavie
Prolate	1.75 ± 0.03 g	9.19 ± 0.07 a	16.09 ± 0.13 hi	غنمی سبز اهواز Qannami Sabz Ahvaz
Prolate	1.91 ± 0.03ef	8.14 ± 0.10 gh	15.57 ± 0.10 i	غنمی سبز آبادان Qannami Sabz Abadan
Perprolate	± 0.04bcde	7.99 ± 0.10 hi	16.10 ± 0.17ghi	غنمی سبز شادگان

	2.02			Qannami Sabz Shadegan
Perprolate	$\pm 0.03bcd$ 2.06	$8.30 \pm 0.06defgh$	$17.06 \pm 0.11bcde$	غنمی سبز ملاثانی
Perprolate	$\pm 0.01bcdef$ 2.00	$8.13 \pm 0.04gh$	$16.28 \pm 0.10fgh$	Qannami Sabz mollasani غنمی قرمز اهواز
Prolate	$1.96 \pm 0.02def$	$8.57 \pm 0.16bcde$	$16.76 \pm 0.13cdef$	Qannami Qermez Ahvaz غنمی قرمز آبادان
Prolate	$1.88 \pm 0.02f$	$8.67 \pm 0.12 bc$	$16.27 \pm 0.08fgh$	Qannami Qermez Abadan غنمی قرمز شادگان
Perprolate	$\pm 0.04bcde$ 2.04	$8.15 \pm 0.15fgh$	$16.60 \pm 0.22defg$	Qannami Qermez Shadegan غنمی قرمز ملاثانی
Perprolate	$\pm 0.04bcde$ 2.02	$8.14 \pm 0.10gh$	$16.47 \pm 0.16efg$	Qannami Qermez Mollasani خکری اهواز
Prolate	$1.95 \pm 0.01def$	$8.28 \pm 0.02defgh$	$16.13 \pm 0.13ghi$	Khekri Ahvaz خکری آبادان
Preprolate	$2.34 \pm 0.04 a$	$7.76 \pm 0.11 i$	$18.11 \pm 0.08 a$	Khekri Abadan خکری شادگان
Perprolate	$\pm 0.03bcde$ 2.03	$8.64 \pm 0.09 bcd$	$17.50 \pm 0.12 b$	Khekri Shadegan خکری ملاثانی
Prolate	$\pm 0.02bcdef$ 1.99	$8.81 \pm 0.06 b$	$17.50 \pm 0.11 b$	Khekri Mollasani غیبانی اهواز
Prolate	$1.75 \pm 0.02 g$	$8.43 \pm 0.05cdefg$	$14.77 \pm 0.11 j$	Qeybani Ahvaz غیبانی شادگان
Prolate	$\pm 0.03 cdef$ 1.97	$8.53 \pm 0.07bcdef$	$16.78 \pm 0.15cdef$	Qeybani Shadegan غیبانی ملاثانی
				Qeybani Mollasani

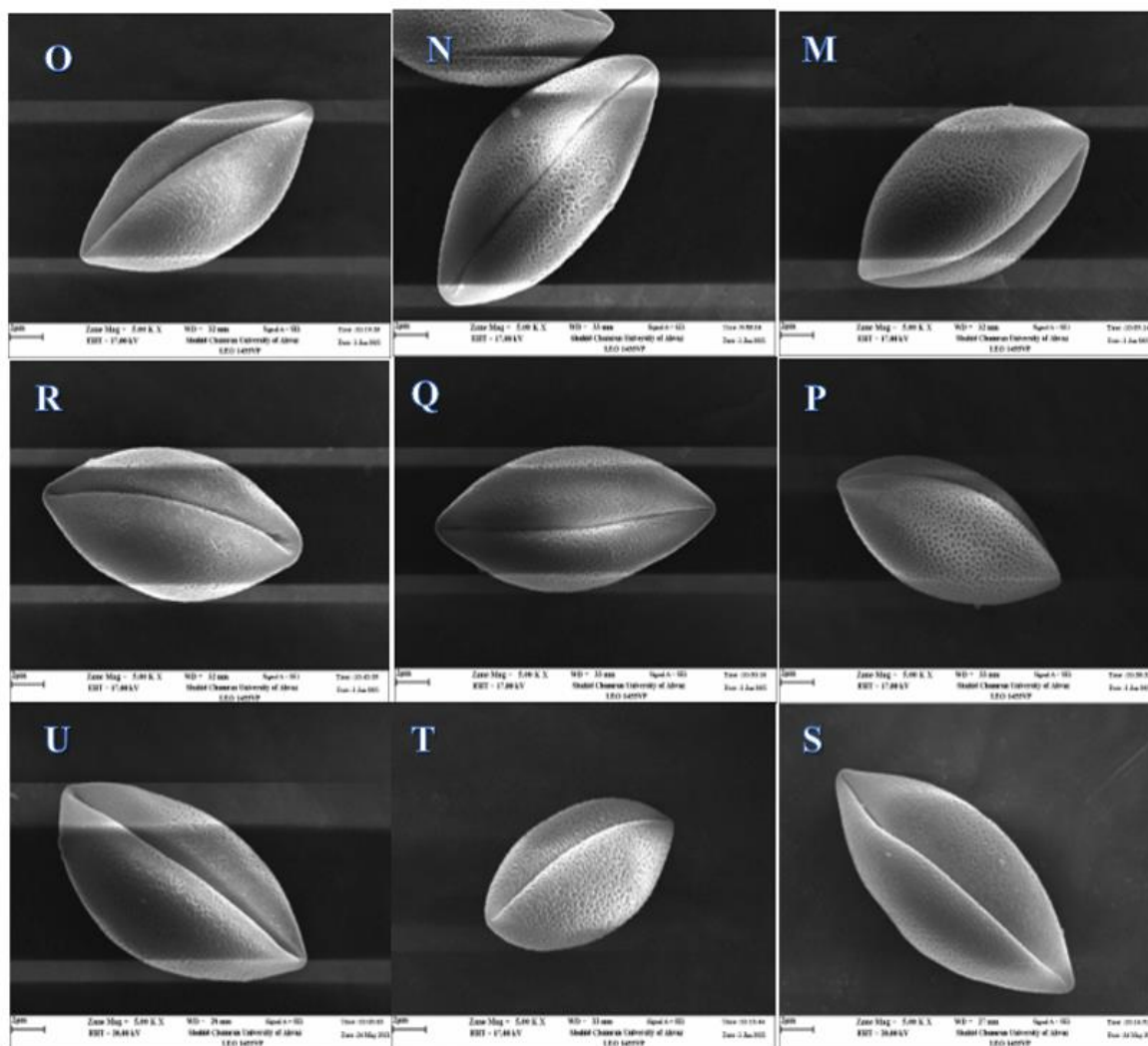
† حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

† Mean $\pm$ SE. The same letters in each column are not significantly different at the 5% probability level.



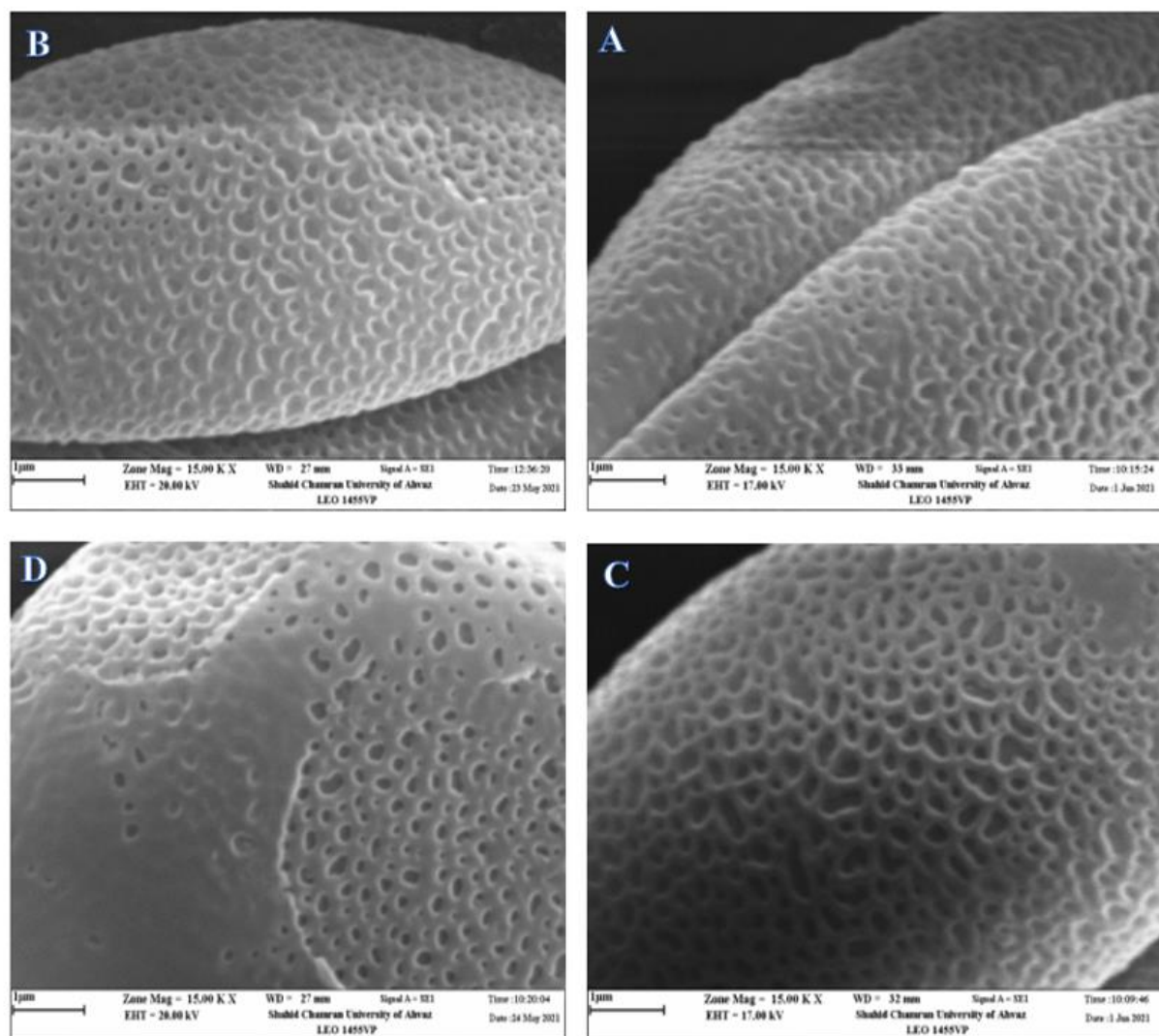
شکل ۱- میکروگراف SEM دانه گرده در بزرگنمایی 5000X. به ترتیب از A تا L نژادگان A و نژادگان B، نر سه خطی، ابوالصریم شادگان، نر سبز پرک، غنمی سفید غزاویه، غنمی سبز اهواز، غنمی سبز آبادان، غنمی سبز شادگان، غنمی سبز ملاثانی، غنمی قرمز اهواز، غنمی قرمز آبادان.

Fig. 1. SEM micrograph of pollen grain at 5000X magnification. From A to L respectively, A: Genotype A, B: Genotype B, C: Nare Se khatti, D: Abulsarim Shadegan, E: Nare Sabz Parak, F: Qannami Sefid Qazavieh, G: Qannami Sabz Ahvaz, H: Qannami Sabz Abadan, I: Qannami Sabz Shadegan, J: Qannami Sabz Mollasani, K: Qannami Qermez Ahvaz and L: Qannami Qermez Abadan.



شکل ۱- ادامه.

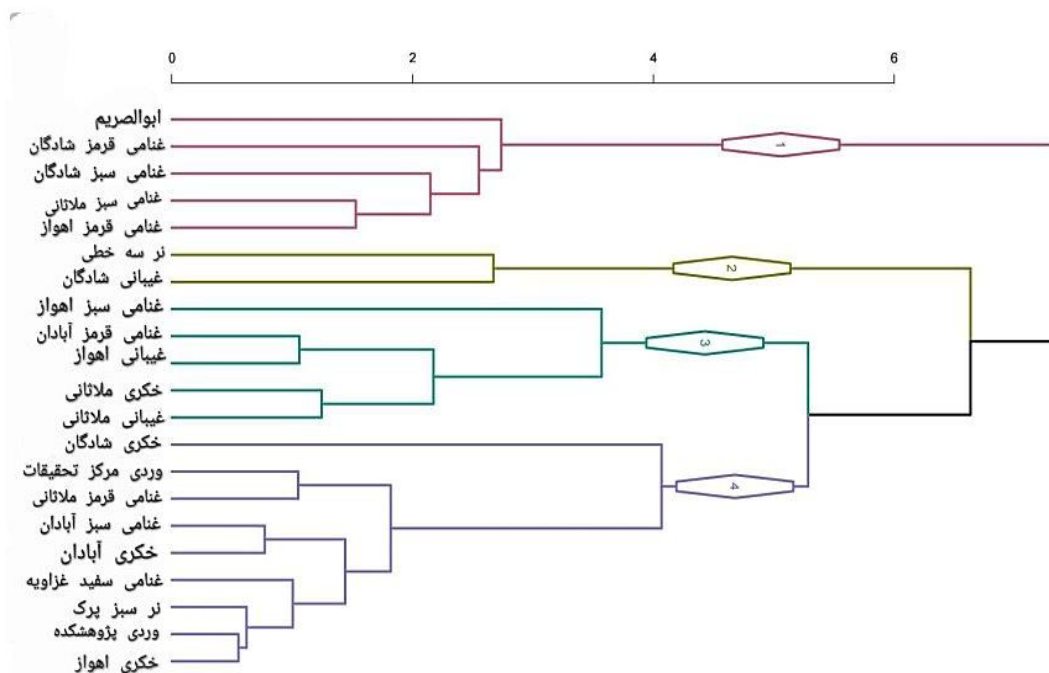
Fig. 1. Continued.



شکل ۲- میکروگراف SEM دانه گرده در بزرگنمایی 15000X. به ترتیب از A تا D غیبانی شادگان، غنمی سبز شادگان، غنمی قرمز شادگان و غیبانی اهواز.

Fig. 2. SEM micrograph of pollen grain at 15000X magnification. From A to D respectively, Qeybani Shadegan, Qannami Sabz Shadegan, Qannami Qermez Shadegan and Qeybani Ahvaz.

بر اساس تجزیه و تحلیل صفات تنژگی و ریخت‌شناسی دانه گرده، دندروگرام UPGMA، نژادگان‌های نخل نر خرما را در ۴ خوشه اصلی گروه‌بندی کرد. گروه یک شامل ۵ نژادگان ابوالصریم شادگان، غنمی قرمز شادگان، غنمی سبز شادگان، غنمی سبز ملاثانی و غنمی قرمز اهواز بود. گروه دو شامل دو نژادگان نر سه خطی و غیبانی شادگان بود. گروه سه شامل ۵ نژادگان غنمی قرمز آبادان و غیبانی اهواز در یک زیر گروه و خکری ملاثانی و غیبانی ملاثانی در زیر گروه دیگر و غنمی سبز به صورت جداگانه بود. گروه چهار شامل ۹ نژادگان وردی مرکز تحقیقات، غنمی قرمز ملاثانی در یک زیر گروه، غنمی سبز آبادان و خکری آبادان در زیر گروه دوم و غنمی سفید غزاویه، نر سبز پرک، وردی پژوهشکده و خکری اهواز در زیر گروه سوم و خکری شادگان به صورت جداگانه بود. کمترین شباهت مورفولوژیکی گرده در بین نژادگان‌های گروه یک و چهار به دست آمد (شکل ۳).



شکل ۳- دندروگرام UPGMA نژادگان‌های نر نخل خرماي استان خوزستان با استفاده از داده های صفات تنژگی و ریخت شناسی دانه گرده.

Fig. 3. UPGMA dendrogram of male date palm genotypes of Khuzestan province using the data of germination traits and pollen grain morphology.

بحث

در این پژوهش، زنده‌مانی گرده همه نژادگان‌های نر خرماي مورد بررسی بیش‌تر از درصد تنژگی آن‌ها بود. قابلیت زنده‌مانی دانه گرده یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های مربوط به کیفیت گرده است که منجر به تنژگی و لقاح موفق می‌شود. در این بررسی، دانه گرده برخی از نژادگان‌ها مانند غنامی سبز شادگان، علی‌رغم درصد زنده‌مانی بالا، درصد تنژگی کمی از خود نشان دادند. به طور کلی در بسیاری از گونه‌های درختان میوه، رابطه خطی بین زنده‌مانی دانه گرده و قابلیت تنژگی آن وجود دارد. اما در برخی موارد ممکن است نتایج متفاوتی در میزان تنژگی برخی از ارقام با درصد دانه‌های گرده زنده در آزمایش‌های رنگ‌آمیزی به دست آید. بنابراین، برای تعیین مقدار واقعی گرده زنده، آزمایش تنژگی درون شیشه‌ای قابل اطمینان‌تر است (Swingle, 1928). محیط مناسب تنژگی گرده از گونه‌ای به گونه دیگر و حتی برای ارقام مختلف یک گونه متفاوت است. این پدیده نشان‌دهنده تفاوت‌های ژنتیکی بین نژادگان‌ها است که توسط بسیاری از پژوهشگران در بسیاری از گونه‌ها و ارقام درختان میوه گزارش شده است (Fogle, 1977; Evrenosoğlu and Misirli, 2009; Al-Najm *et al.*, 2021). در بررسی تندش دانه گرده ارقام آسیایی گلابی مشخص شد که بین ارقام گلابی آسیایی از نظر میزان تندش دانه گرده و رشد لوله گرده اختلاف معنی‌دار وجود داشت (Ghazaian *et al.*, 2016) که با یافته‌های این آزمایش مطابقت داشت.

در مطالعه فراساختار دانه گرده چهار پارامتر محور قطبی، قطر استوایی و نسبت P/E به طور جداگانه تفاوت‌های معنی‌داری را بین نژادگان‌ها نشان داد. با توجه به گروه‌بندی پیشنهادی Erdtman (۱۹۶۶) دانه گرده نژادگان‌های مورد مطالعه بر اساس اندازه محور قطبی همه در گروه دانه‌های گرده کوچک و بر اساس نسبت اندازه طول محور قطبی به محور استوایی در دو گروه کشیده^۱ و بسیار کشیده^۲ قرار می‌گیرند. با این وجود دانه گرده همه نژادگان‌ها قایقی‌شکل، تک‌شیاره و دارای پوسته خارجی مشبک بودند. به طور کلی یافته‌های این پژوهش نشان داد که نژادگان‌های مورد بررسی از لحاظ ابعاد و میزان کشیدگی شکل

دانه گرده و نیز درصد زنده‌مانی و تنژگی تفاوت معنی‌داری داشتند که به جز صفات زنده‌مانی و تنژگی که ممکن است تحت تاثیر شرایط محیط تغییر نمایند، صفات ریخت‌شناسی دانه گرده نخل خرما می‌توانند به عنوان نشانگر برای شناسایی نژادگان‌های دور یا حتی نزدیک مورد استفاده قرار گیرند. این نتایج با یافته‌های برخی پژوهشگران که بیان کردند که تفاوت در ابعاد و شکل دانه گرده و الگوهای پوسته خارجی ارقام نخل خرما می‌تواند برای تمایز ارقام مفید باشد در انطباق است (Rashid *et al.*, 2017; Shahhosseini and Shahsavar, 2017; Zhang *et al.*, 2017; Aly, 2018; Wang and Dobritsa, 2018; Mortazavi *et al.*, 2019; Al-Najm *et al.*, 2021). در پژوهش ریخت‌شناسی دانه گرده برخی از نخل‌های نر خرما در عربستان سعودی مشخص شد که درصد تنژگی و ابعاد دانه گرده به طور قابل توجهی در بین ارقام متفاوت است (Salomon-Torres *et al.*, 2021). همچنین نتایج ویژگی‌های ریخت‌شناسی دانه گرده بادام نشان دادند که ریخت‌شناسی دانه گرده نظیر شکل و ابعاد گرده (طول قطبی، پهنای استوایی و نسبت P/E)، تعداد حفره‌ها، تعداد برجستگی‌ها و الگوی اگزین می‌تواند برای تشخیص گونه‌ها و ارقام گونه‌های بادام مورد استفاده قرار گیرد (Sorkheh *et al.*, 2008). علاوه بر این یافته‌های بررسی طبقه‌بندی برخی از ارقام انار ایرانی بر اساس ریخت‌شناسی دانه گرده مشخص نمود که ریخت‌شناسی دانه گرده می‌تواند به عنوان ابزار مفیدی برای شناسایی ژرم پلاسما انار مورد استفاده قرار گیرد (Varasteh and Arzani, 2009) که این نتایج با نتایج این آزمایش مطابقت داشت. تحقیقات انجام شده بر روی ویژگی‌های ریخت‌شناسی دانه گرده ارقام مختلف زردآلو (Dar *et al.*, 2020)، زیتون (Javady and Arzani, 2001; Khaleghi *et al.*, 2019)، گیلان (Mert, 2009; Nikolić and Milatović, 2015)، سیب (Fogle, 1977)، خرما (Salomon-Torres *et al.*, 2021; Hachef *et al.*, 2023) و گلابی (Zhou, 2000) نشان داد که بین ارقام خصوصیات ریخت‌شناسی دانه گرده متفاوت می‌باشد و می‌توان از این ویژگی‌های دانه گرده و ویژگی‌های ریخت‌شناسی درخت برای شناسایی و گروه‌بندی ارقام استفاده کرد که این نتایج با یافته‌های این آزمایش مطابقت داشت.

بر اساس دندروگرام، به طور کلی، نژادگان‌ها به چهار کلاستر با تعداد اعضای متفاوت تقسیم شدند، خوشه‌ها به ترتیب شامل ۵، ۲، ۵ و ۹ نژادگان بودند. دو نژادگان نر سه‌خطی و غیبانی شادگان به تنهایی یک خوشه تشکیل دادند (شکل ۳). بررسی دندروگرام نشان داد که نژادگان‌ها بر اساس هم‌نامی‌های محلی گروه تشکیل ندادند. نژادگان‌های خکری سه منطقه اهواز، آبادان و شادگان همگی در گروه ۴ قرار گرفتند. ولی نژادگان خکری ملاثانی در گروه ۳ جای گرفت و با هم‌نام‌های سایر مناطق شباهت زیادی نشان نداد. نژادگان‌های غنمی سبز اهواز و آبادان در دو خوشه جداگانه ۳ و ۴ گروه‌بندی شدند، در حالی که هم‌نام‌های آن‌ها از شادگان و ملاثانی در یک خوشه (خوشه ۱) جای گرفتند. نژادگان‌های غنمی قرمز اهواز و شادگان در یک خوشه (خوشه ۱) و هم‌نام‌های آن‌ها از آبادان و ملاثانی به ترتیب در خوشه‌های ۳ و ۴ قرار گرفتند. سه نژادگان غیبانی از سه منطقه اهواز، شادگان و ملاثانی نیز در دو خوشه جای گرفتند. غیبانی اهواز و ملاثانی در خوشه ۳ و هم‌نام آن‌ها از شادگان در خوشه ۲ جای گرفت. بنابراین، بر طبق نتایج به‌دست آمده از دندروگرام به احتمال قوی نام‌گذاری نژادگان‌ها در هنگام جا به جایی بین مناطق مختلف استان خوزستان توسط کشاورزان به اشتباه صورت گرفته باشد و یا اینکه ویژگی‌های زنده‌مانی و تنژگی دانه گرده نژادگان‌ها تحت تاثیر شرایط اقلیمی و محیطی مختلف تغییر کرده است. این یافته‌ها با گزارش‌های انجام شده بر روی ارقام نر خرما مطابقت داشت (Mortazavi *et al.*, 2019).

بر اساس نتایج به دست آمده از این آزمایش، بین نژادگان نر خرما از نظر خصوصیات ریخت‌شناسی دانه گرده شامل محور قطبی، محور استوایی، نسبت محور قطبی به استوایی و شکل دانه گرده تفاوت معنی‌دار آماری وجود داشت. با توجه به اینکه خصوصیات ریخت‌شناسی دانه گرده می‌تواند به عنوان ابزار مفیدی برای گروه‌بندی نژادگان به کار گرفته شود، بنابراین نژادگان هم‌نامی که مطابق با داده‌های میکروسکوپ الکترونی نگاره دارای ویژگی‌های ریخت‌شناسی گرده یکسانی هستند می‌توانند از یک نژادگان باشند.

علاوه بر این، نتایج این آزمایش نشان داد که بین نژادگان از نظر صفات تنژگی و درصد زنده‌مانی تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد اما به دلیل اینکه این شاخص‌ها تاثیر شرایط آب و هوایی، خاک، میزان آبیاری، زمان ظهور اسپات (عمر اسپات، اسپاتی که ابتدا ظهور می‌کند و اسپاتی که در انتهای فصل ظهور می‌کند) و میزان دمای منطقه متفاوت می‌باشد، لذا نمی‌توان به عنوان ابزار بسیار دقیقی برای تفکیک و گروه‌بندی نژادگان در نظر گرفت.

خصوصیات دانه گرده شامل ابعاد دانه گرده و درصد زنده‌مانی و تنژگی آن ممکن است در ارتباط با عوامل محیطی مانند شرایط اقلیمی، موقعیت جغرافیایی، رطوبت، درجه حرارت تغییر نماید. در پژوهشی که برای درک رابطه بین ریخت‌شناسی دانه گرده و شرایط اقلیمی مانند ارتفاع منطقه، میانگین دمای ماهانه و پتانسیل تبخیر و تعرق انجام دادند دریافتند که بعضی از گونه‌های گیاهی تمایل دارند ابعاد دانه گرده خود را با توجه به شرایط اقلیمی منطقه کشت به منظور سازگاری تغییر دهند هر چند تشخیص این تغییرات آسان نیست (Ejsmond *et al.*, 2011).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشخص شد که بین نژادگان خرما تفاوت معنی‌داری از لحاظ ابعاد و شکل دانه گرده وجود دارد. با بررسی دندروگرام و با توجه به اینکه نژادگان‌های همنام در خوشه‌های جدا گروه‌بندی شدند و در عین حال نژادگان‌های مختلف یک منطقه نیز از یکدیگر جدا شده و در خوشه‌های متفاوت جای گرفتند. می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در مجموع صفات ریخت‌شناسی دانه گرده قادر به تفکیک نژادگان‌های نخل خرما می‌باشند و از آن‌ها می‌توان برای مطالعات شناسایی ارقام در برنامه‌های به‌نژادی نخل خرما، بانک‌های ژنی و مطالعه جریان ژن استفاده کرد.

پیشنهادهای

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این پژوهش و نتایج مشابه توسط دیگر پژوهشگران، مطالعه جامع ژنتیکی، ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک (شامل مطالعه ساختار داخلی (آناتومی) اندام‌ها و اجزای مختلف نخل خرما اعم از ساقه، برگ، ریشه، گل‌آذین، گل، دانه گرده) نژادگان‌های نر بومی استان خوزستان به منظور شناسایی آن‌ها و ایجاد یک دیسکرپتور و بانک اطلاعاتی جامع و واحد از نژادگان‌های نر نخل خرما این استان، ارائه کلید شناسایی ارقام مختلف نخل خرما بر اساس صفات کمی و کیفی مطالعه شده و نیز شناسایی و معرفی بهترین پایه‌های گرده دهنده از میان نژادگان‌های مطالعه شده ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز و از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) بواسطه حمایت مالی کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

منابع

- Aasim, M., Akgür, Ö., & Yıldırım, B. (2022). An overview on boron and pollen germination, tube growth and development under in vitro and in vivo conditions. *Boron in Plants and Agriculture*, 293-310.
- Abdi, F., Roozbeh, N., & Mortazavian, A. M. (2017). Effects of date palm pollen on fertility: research proposal for a systematic review. *BMC Research Notes*, 10(1), 1-4.
- Al-Najm, A., Brauer, S., Trethowan, R., Merchant, A., & Ahmad, N. (2021). Optimization of in vitro pollen germination and viability testing of some Australian selections of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) and their xenic and metaxenic effects on the tissue culture-derived female cultivar "Barhee". *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 57, 771-785.
- Aly, H. S. (2018). Evaluation of pollen grains germination, viability and chemical composition of some date palm males. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 7(7), 235-247.
- Arzani, K., Nejatian, M., & Karimzadeh, G. (2005). Apricot (*Prunus armeniaca*) pollen morphological characterisation through scanning electron microscopy, using multivariate analysis. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 33(4), 381-388.
- Dar, J. A., Wani, A. A., & Dhar, M. K. (2020). Preliminary pollen analysis of some apple cultivars in Kashmir: Towards understanding the apple pollen morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 90, 431-438.
- Ejsmond, M. J., Wrońska-Pilarek, D., Ejsmond, A., Dragosz-Kluska, D., Karpińska-Kołaczek, M., Kołaczek, P., & Kozłowski, J. (2011). Does climate affect pollen morphology? Optimal size and shape of pollen grains under various desiccation intensity. *Ecosphere*, 2(10), 1-15.
- Erdtman, G. (1966). Pollen morphology and plant taxonomy. *Angiosperms. (An Introduction to Palynology I)*. New York, USA: Hamer Pub. Co. 380 pp.
- Evrenosoğlu, Y., & Misirli, A. (2009). Investigations on the pollen morphology of some fruit species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33(2), 181-190.
- Fogle, H. W. (1977). Identification of Tree Fruit Species by Pollen Ultrastructure1. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102(5), 548-551.

- Furr, J., & Enriquez, V. (1966). Germination of date pollen in culture media. *Germination of date pollen in culture media*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1-12. doi.org/10.3389/fpls.2022.994214
- Ghazaian, M., Arzani, K., & Moini, A. (2016). Investigating the morphology of pollen grains of Asian pears by scanning electron microscopy (SEM) and determining the suitable culture medium for pollen germination. *Iranian Journal of Horticultural Sciences and Techniques*, 8(2), 113-124. (in Persian)
- Hachef, A., Bourguiba, H., Cherif, E., Ivorra, S., Terral, J.-F., & Zehdi-Azouzi, S. (2023). Agro-morphological traits assessment of Tunisian male date palms (*Phoenix dactylifera* L.) for preservation and sustainable utilization of local germplasm. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(3), 103574.
- Javady, T., & Arzani, K. (2001). Pollen morphology of five Iranian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 3(1), 37-42.
- Khaleghi, E., Karamnezhad, F., & Moallemi, N. (2019). Study of pollen morphology and salinity effect on the pollen grains of four olive (*Olea europaea*) cultivars. *South African Journal of Botany*, 127, 51-57.
- Mert, C. (2009). Pollen morphology and anatomy of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) cultivars. *HortScience*, 44(2), 519-522.
- Mortazavi, S., Arzani, K., & Moeini, A. (2010). Optimizing storage and in vitro germination of date palm (*Phoenix dactylifera*) pollen. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 181-189.
- Mortazavi, M.H., Torahi, A., & Barmeh, L. (2019). Pollen morphology of male date varieties of Khuzestan province with scanning electron microscope (SEM). *Plant Production Journal*, 33(2), 97-109. (In Persian).
- Mulas, M., Nieddu, G., & D'Hallewin, G. (1988). Pollen ultrastructure of twenty almond cultivars. *Advances in Horticultural Science*, 2(3), 88-95.
- Nikolić, D., & Milatović, D. (2013). *Scanning electron microscopy study of pollen morphology of five sour cherry cultivars*. Paper presented at the VII International Cherry Symposium 1161.
- Nikolić, D., & Milatović, D. (2015). *Pollen morphology of some sweet cherry cultivars observed by scanning electron microscopy*. Paper presented at the III Balkan Symposium on Fruit Growing 1139.
- Rashid, A. A., Perveen, A., & Abid, R. (2017). Pollen morphology of the subfamily Coryphoideae-Arecaceae (excluding tribe Phoenixaceae) from Pakistan and Kashmir. *Pakistan Journal of Botany*, 49(2), 605-616.
- Shahhosseini, A., & Shahsavar, A. (2017). Evaluation of Morphological Characteristics of Pollen Grains and Inflorescence in Some Male Date Palm Cultivars. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 18(2), 103-114. (In Persian).
- Salomon-Torres, R., Krueger, R., Garcia-Vazquez, J. P., Villa-Angulo, R., Villa-Angulo, C., Ortiz-Uribe, N., & Samaniego-Sandoval, L. (2021). Date palm pollen: Features, production, extraction and pollination methods. *Agronomy*, 11(3), 504.
- Soliman, S., & Al-Obeed, R. (2013). Investigations on the pollen morphology of some date palm males (*Phoenix dactylifera* L.) in Saudi Arabia. *Australian Journal of Crop Science*, 7(9), 1355-1360.
- Sorkheh, K., Vezvaei, A., Wirthensohn, M., & Martínez-Gómez, P. (2008). Pollen ultrastructure characterization in Californian and Australian almond cultivars. *Journal of the American Pomological Society*, 62(4), 173-177.
- Sowunmi, M. A. (1972). Pollen morphology of the Palmae and its bearing on taxonomy. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 13(1), 1-80.
- Swingle, W. T. (1928). Metaxenia in the date palm: possibly a hormone action by the embryo or endosperm. *Journal of Heredity*, 19(6), 257-268.
- Sulusoglu, M., & Cavusoglu, A. (2014). In vitro pollen viability and pollen germination in cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.). *The Scientific World Journal*, 657123.
- Talaie, A., & Imani, A. (1997). *Morphology of pollen grains as an index for identification of local Iranian almond varieties*. Paper presented at the II International Symposium on Pistachios and Almonds 470.
- Varasteh, F., & Arzani, K. (2009). Classification of some Iranian pomegranate (*Punica granatum*) cultivars by pollen morphology using scanning electron microscopy. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 50(1), 24-30.
- Wang, R., & Dobritsa, A. A. (2018). Exine and aperture patterns on the pollen surface: their formation and roles in plant reproduction. *Annual Plant Reviews Online*, 589-628.
- Zhang, W.-X., Zhao, M.-M., Fan, J.-J., Zhou, T., Chen, Y.-X., & Cao, F.-L. (2017). Study on relationship between pollen exine ornamentation pattern and germplasm evolution in flowering crabapple. *Scientific Reports*, 7(1), 39759.
- Zhou, L., Wei, Z., & Wu, Z. (2000). Pollen morphology of Maloideae of China (Rosaceae). *Acta Botanica Yunnanica*, 22(1), 47-52.

Pollen Germination and Morphologic Characteristics of Some Male Date Palm Genotypes (*Phoenix dactylifera* L.) in Khuzestan Province

Nasim Mohammadi¹, Noorollah Moallemi¹, Esmaeil Khaleghi^{1*}, Khosro Mehdikhanlou², Mousa Mousavi¹

1. Departemnt of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz

2. Plant Genetic Production Engineering Department, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz

* Corresponding Author, Email: (Khaleghi@scu.ac.ir)

This study was conducted to investigate pollen germination and morphological characteristics of 21 male date palms in Khuzestan province in a completely randomized block design with three replications. The percentage of viability of pollen grains was determined by acetocarmine staining test and the percentage of germination was determined using the modified Brewbaker and Kwack (MBK) culture medium. The morphological characteristics of pollen grains, including polar axis (P), equatorial axis (E), P/E ratio and the pattern of exine arrangement were also investigated using scanning electron microscope (SEM). The average viability percentage and pollen germination percentage of the genotypes were between 70.33 to 99% and 11.33 to 96.33 %, respectively. In addition, the results of mean comparison showed that the studied genotypes demonstrate more variation in the germination percentage compared to the viability percentage. The results showed that pollen grains of different genotypes were significantly different in terms of dimensions (polar and equatorial axis), percentage of viability and germination. The study of SEM micrographs showed that the pollen grains in all genotypes were monad, prolate, monosulcate and had reticulate and irregular exine ornamentation. Based on the dendrogram, the studied genotypes were classified into four main clusters, and genotypes with the same name from different regions were not included in the same cluster. This issue indicatess the correctness of the hypothesis of this study that the genotypes with the same name are different and their traditional naming by growers is incorrect. These findings showed that the morphological parameters and pollen germination traits could be used to identify the pollen of different date palm genotypes and to study their relationships.

Keywords: Exine Ornamentation, Micrograph, Scanning Electron Microscope, Viability Percentage.