مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (26) العدد (1)2004
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research- Basic Science Series Vol (26) No (1) 2004

دراسة إنتاش حبوب الطلع ونمو الأنابيب الطلعية في الزجاج عند نبات الحوذان

Ranunculus Circinatus Sibth.

الدكتور سرحان لايقة*
الدكتور محمد معلا**
عفيفة عيسى***

(قبل للنشر في 2003/10/13)

□ الملخّص □

درسنا مجموعة من العوامل الهامة التي تلعب دوراً كبيراً في عملية انتاش ونمو الأنبوب الطلعي في نبات Ranunculus circinatus وهذه العوامل هي السكروز بتراكيز عدة (50–75–100–125غ/لتر) وتأثير الحرارة بدرجات عدة (20–25–30°م)، ودرجة الحموضة بدرجات عدة (4، 5، 6، 7)، وتأثير البور والكالسيوم وكذلك الفترة الزمنية المثالية للحصول على أفضل نمو للأنبوب الطلعي وأعلى نسبة للانتاش.

أظهرت الدراسة أن وجود الكالسيوم والبور في الوسط الأساسي ضروري لحادثة الانتاش ونمو الأنبوب الطلعي. إذ لم يحدث انتاش في غياب الكالسيوم وكانت نسبة الانتاش قليلة في غياب البور (4%) ولم يتجاوز طول الأنبوب الطلعي (150 ميكرون).

أما أعلى نسبة انتاش تم الحصول عليها (88%) كانت بعد 3 ساعات من الزراعة وأفضل نمو للأنبوب الطلعي على الوسط الأساسي (715 ميكرون) عند درجة الحرارة 25°م وعند PH = 6 وبوجود 100غ/ليتر من السكروز.

* أستاذ في قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
** أستاذ في كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
*** معيدة في قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية _ سلسلة العلوم الأساسية المجلد (26) العدد (1)2004
Tishreen University Journal for Studies and Scientific Research- Basic Science Series Vol (26) No (1) 2004

Study of Androecium Granules Germination and Growth of Androecium Tube (or Tubus) in Vitro in Ranunculus Circumatus Sibth

Dr. Sarhan Layka*
Dr. Mohamad Moualla**
Mme. Afifa Issa***

(Accepted 13/10/2003)

□ ABSTRACT □

A group of important factors that played a great role in germination and growth process of androecium tube in R. circumatus were studied, these factors are: sucrose at many concentration (50, 75, 100 and 125 g/l), influence of temperature at various degrees (4, 5, 6 and 7&), and PH at different degrees (4, 5, 6 and 7), in addition to, the impact of Bore (B) and calcium (Ca). moreover, it is the optimum temporal period to obtain ratio of germination.

This study revialed that the presence of B and Ca in the basal medium was necessary for process of germination and growth of androecium tube, therefore, the germination did not take place in absence of Ca and the germination ratio was low in absence of B (4%). the ratio did not overstep the long of androecium tube (150 um).

While, the highest ratio of germination was obtained (88%) after three hours of culture, and the best growth of andoecium tube was in the basal (or original) medium (715um) at 25°C and PH = 6 and presence of 100g/l sucrose.

*** Professor - Department Of Biology, Faculty Of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
****Professor, Faculty Of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*****Postgraduate Student -Department Of Biology, Faculty Of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

تلعب النباتات المائية والرطبة دوراً هاماً في التوازن البيئي إذ أنها تعتبر مصدراً أساسياً في السلسلة الغذائية للعديد من الكائنات الحية المائية والبرمائية. إضافة إلى دورها الأساسي في توفير الأوكسجين لهذه الكائنات وموئلاً طبيعياً آمناً.

ومن النباتات الواسعة الانتشار في القطر العربي السوري والتي تنمو في بيئة مائية ورطبة نباتات الفصيلة الحوذانية Ranunculaceae التي تتوزع في مناطق متعددة وتلعب دوراً هاماً في التوازن البيئي إضافة إلى الأهمية الاقتصادية لبعض أجناسها مثل Adonis والحوذان Ranunculus حيث يستخرج مواد طبية شبه قلوية عديدة الاستخدامات لاسيما لمعالجة أمراض الأوعية الدموية والحصول منها على مستخلصات طبية لمكافحة الفطور النباتية الممرضة [1].

وللوقوف على الأهمية الاقتصادية والطبية للفصيلة الحوذانية فقد اخترنا جنس الحوذان Ranunculus لتحديد أهميته بشكل دقيق ولدراسة توزعه وانتشاره الجغرافي والبيئي ودراسة خصائصه البيولوجية.

هدف البحث:

تحديد بعض العوامل الهامة والمؤثرة على إنتاش حبوب الطلع للنوع R.. circinatus حيث يوجد عدد كبير من العوامل المؤثرة على إنتاش حبوب الطلع ولكن ركزنا في دراستنا هذه على أهم العوامل المؤثرة حسب بعض الباحثين [8، 13].

لقد اهتم علماء النبات اهتماماً خاصاً بدراسة صفات حبوب الطلع عند مغلفات البذور نظراً للدور الذي تضطلع به في عملية تشكل البذور والثمار وبالتالي المحافظة على استمرارية النوع النباتي.

بعد تشكل حبوب الطلع في المآبر تنضج ثم تنقل إلى مياسم الأزهار بوسائل التأبير المختلفة.

إن أهمية حبوب الطلع في الدراسات التصنيفية احتلت أولوية في العديد من مراكز البحوث العالمية إذ قام العالم [2] بدراسة مورفولوجية حبوب الطلع لعدد من الفصائل النباتية. وقد قام [3] بدراسة حبوب الطلع لبعض الأنواع التابعة لفصيلة Papaveraceae مستخدماً المجهر الالكتروني وبين أهمية هذه الدراسة في تصنيف بعض أنواع هذه الفصيلة.

فيما قام آخرون بدراسة حيوية حبوب الطلع وبعض العوامل التي تؤثر في انتاشها فقد بين كل من [4] و [5] أهمية حموضة الوسط (pH) على عملية الإنتاش حيث لم يلاحظ انتاش في الدرجة (pH = 4) ولا في الدرجة (pH = 8) وما فوق بل حصل على أفضل نسبة انتاش في الدرجة (pH = 5.5).

فيما أشار كل من [6] و [7] إلى تأثير درجة الحرارة على عملية الانتاش حيث لاحظوا أن أعلى نسبة للانتاش كانت ما بين الدرجتين (25 و 29م°) وذلك حسب النوع المدروس. وأشارت دراسات أخرى أن أفضل نمو للإنبوب الطلعي كان في الدرجة 25°م [8]. إضافة إلى العوامل المذكورة فقد درس العديد من الباحثين تركيز السكروز في عملية الانتاش إذ وجد [4] أن التركيز 200غ/لتر أعطى أفضل نتيجة للإنتاش وهي 96% وتشير كثير من الدراسات إلى دور بعض العناصر المعدنية كالكالسيوم والبور في عملية الإنتاش ونمو الأنبوب الطلعي [10] حيث وجد أن هذين العنصرين ضروريان لنمو الأنبوب الطلعي وزيادة نسبة الإنتاش. ووجد [10] أن عنصر البور يلعب دوراً هاماً في إنتاش حبوب الطلع حيث حصل على أعلى نسبة للإنتاش 98% بتركيز 500مع/لتر. بينما لم يحدث إنتاش عندما ارتفع التركيز إلى أكثر من 600 مغ/لتر.

المواد والطرائق:

المادة النباتية:

النوع Ranunculus circinatus من الفصيلة Ranunculaceae رتبة Ranales هو نوع نباتي عشبي حولي غاطس أزهاره مفردة خنثوية منتظمة ويتجاوز طول شمراخ الزهرة طول الورقة، وتتوزع أوراقه المتفرعة في الماء خيطية الشكل. تنتشر أزهاره البيضاء الجميلة فوق سطح الماء شكل (A–1 و B). يتميز الغلاف الزهري إلى كاس وتويج يتألف الكأس من /5/ أوراق كأسية خضراء اللون يتراوح طولها (2.5-3.5mm) أما التويج فيتألف من /5/ أوراق تويجية بيضاء اللون طول الورقة (5-8mm) تتوضع الأسدية العديدة في محيطات. أما الكرابل فهي عديدة منفصلة وتقع في محيطات في مركز الزهرة. التأبير حشري والثمرة مجموعة من الاكينات عددها 30–75 فقيرة.

القانون الزهري: ⊗، ♀، ك$_5$، ت$_5$، ط$_\infty$، م$_\infty$

الطرائق:

استخدمنا في بحثنا الوسط الزرعي الأساسي حسب [11] والذي يتألف من:

- سكروز 100غ/لتر
- H_3BO_3 100ملغ/لتر
- $Ca(NO_3)_2.4H_2O$ 300 ملغ/لتر
- $MgSO_4.\ 7H_2O$ 200 ملغ/لتر
- KNO_3 100ملغ/لتر
- آغار 10 غ/لتر

بعد تحضير الوسط المغذي ضبطت درجة حموضة الوسط pH = 6 وتم تسخينه وتوزيعه في أطباق بتري قطرها 10 سم ثم عقمت في جهاز التعقيم بدرجة 120°م ولمدة 20 دقيقة ثم وضعت في البراد لوقت الحاجة.

دراسة عملية الإنتاش:

قمنا بنثر حبوب الطلع على الوسط المغذي الجامد في أطباق بتري ثم أضفنا كمية قليلة من وسط الإنتاش السائل وحركناه لتتوزع حبوب الطلع بشكل متجانس على وسط الإنتاش ثم وضعنا هذه الأطباق في الظلام داخل الحاضنة ولكي نحدد الشروط المثلى للإنتاش قمنا بتكرار هذه التجربة عدة مرات وبدرجات حرارة مختلفة (20–25–30م°). تمت مراقبتها مدة 24ساعة من الزراعة وعد حبوب الطلع بعد 15 و 30 و60 و 120 و 180 و 240 دقيقة وذلك لمعرفة في أي فترة زمنية نحصل على أعلى نسبة للإنتاش.

حسبت هذه النسبة بعد أخذ عدة ساحات مجهرية في نفس الطبق وفي كل ساحة قمنا بعدّ من 50–75 حبة طلع منتشة وغير منتشة حتى أحصينا أكثر من 700 حبة تحت الساحة المجهرية الضوئية وتم قياس أكثر من 60 أنبوب طلعي من بداية الانتاش أي بعد الزراعة بـ 15 ثم 30 ثم 60 ثم 120 ثم 180 ثم 240 دقيقة في كل الشروط من التجارب وتم ذلك بواسطة عدسة ميكرومترية ومن ثم سجلنا متوسط طول الأنابيب الطلعية .

العوامل المؤثرة على الانتاش:

أ– السكروز تمت دراسة أربعة تراكيز 50غ/لتر، 75 غ/لتر، 100غ/لتر 125غ/لتر.

ب– درسنا إنتاش حبوب الطلع على الأوساط المغذية في درجات مختلفة من الحرارة 20°م، 25°م، 30°م.

حـ- درجة الحموضة pH درسنا أربع درجات مختلفة 4، 5، 6، 7 في الأوساط المستخدمة للإنتاش.

د- الوقت: درس الانتاش ونمو الأنبوب الطلعي في ست فترات زمنية 15-30-60-120-180 -240 دقيقة.

هـ- دور العناصر المعدنية استخدمنا وسطين الأول يحوي البور والكالسيوم والثاني شاهد بدون بور وكالسيوم.

النتائج والمناقشة:

1- تأثير تراكيز السكروز ودرجة الحرارة والزمن في نسبة الانتاش، ونمو الأنبوب الطلعي تباينت نسبة الانتاش بتباين تركيز السكروز ودرجة الحرارة في نفس الوسط الحمضي (pH = 6) إذ وجدنا أن الانتاش تزداد نسبته بازدياد تركيز السكروز حتى نسبة محددة أي بدءاً من 50 غ/لتر 75غ/لتر ووصلت أعلى نسبة عند التركيز 100غ/لتر إذ بلغت 88% وأخذت النسبة في الانخفاض عند التركيز 125غ/لتر في درجات الحرارة الثلاثة (20، 25، 30°م) جدول (1) وشكل رقم (2).

وبشكل مشابه فقد كان لدرجة الحرارة تأثير واضح على نسبة الانتاش ففي درجة الحرارة 20°م كانت نسبة الانتاش 13% عند تركيز السكروز 50غ/لتر وارتفعت إلى 30% في التركيز 75غ/لتر ثم إلى 84% في التركيز 100غ/لتر شكل (2) ثم انخفضت إلى 75% في 125غ/لتر أما عند الدرجة 25°م كانت نسبة الانتاش في التركيز 50غ/لتر 20% ثم ارتفعت إلى 30% في التركيز 75غ/لتر وبلغت أعلى نسبة إنتاش في التركيز 100غ/لتر 88% وانخفضت النسبة في التركيز 125غ/لتر إلى 73% ويتضح بالتالي أن درجة الحرارة 25°م هي الأفضل للحصول على أعلى نسبة إنتاش 88% شكل (1) وفي درجة الحرارة 30°م انخفضت نسبة الإنتاش مقارنة بالدرجة 20 و 25م مع أن تركيز السكروز كان مساوياً مع وسط هاتين الدرجتين وكان الانخفاض واضحاً إذ لم تتجاوز نسبة الانتاش 62% جدول رقم (1) وشكل رقم (3).

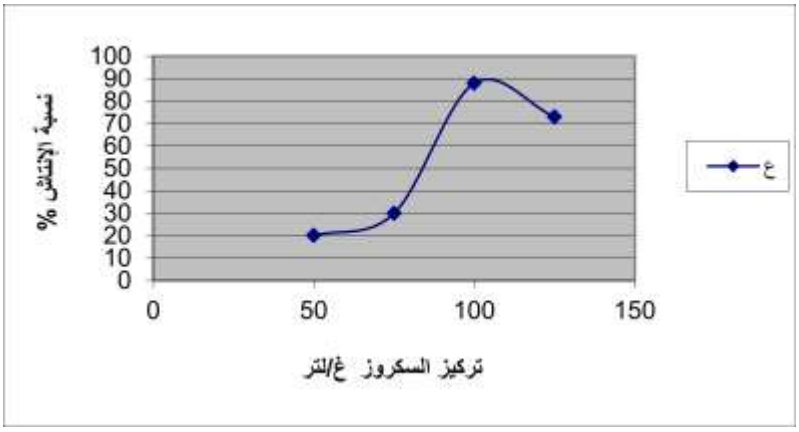
جدول (1) يوضح تأثير تركيز السكروز ودرجة الحرارة على نسبة الإنتاش.

درجة الحموضة pH	درجة الحرارة T	تركيز السكروز غ/لتر	النسبة المئوية للإنتاش %
6	20°م	50	13
		75	31
		100	84
		125	75
	25°م	50	20
		75	30
		100	88
		125	73
	30°م	50	4
		75	43
		100	62
		125	42

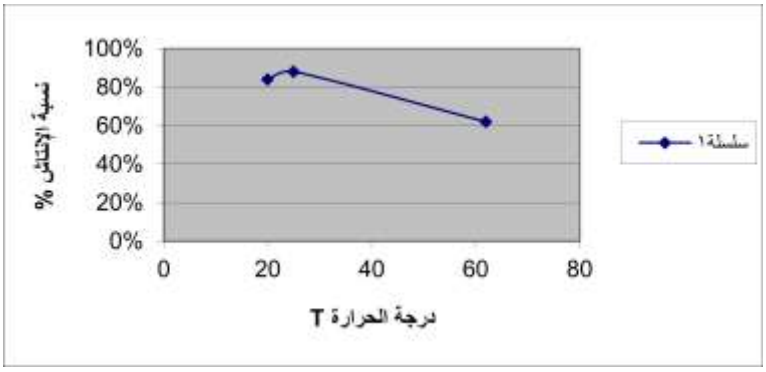
(A)

(B)

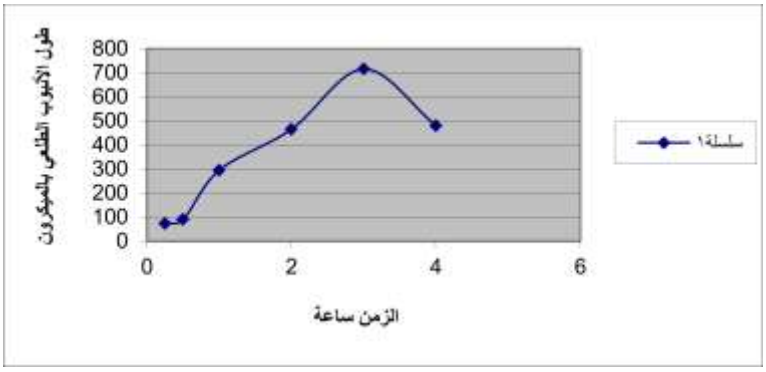
شكل 1- A - النبات في الماء
B - فرع من النبات



شكل (2) تأثير تركيز السكروز بالنسبة المئوية للإنتاش



شكل (3) تأثير درجة الحرارة على النسبة المئوية للإنتاش عندما يكون تركيز السكروز 100غ/لتر



شكل (4) علاقة طول الأنبوب الطلعي مع الزمن في الشروط المثلى لتجربتنا.

وأيضاً أجريت تجربة تأثير تركيز السكروز ودرجة الحرارة على نمو الأنبوب الطلعي كان الوسط الزرعي الأساسي لزرع حبوب الطلع في الشروط المثلى (25°م) ودرجة الحموضة pH = 6 وقد أشارت النتائج أن تباين

أطوال الأنابيب الطلعية بتباين تركيز السكروز (50، 75، 100، 125 غ/لتر) مع ازدياد الزمن الذي تم فيه قياس هذه الأطوال (15، 30، 60، 120، 180 ، 240 دقيقة) بعد حضن أطباق بتري في الحاضنة وكانت أطول الأنابيب في كل زمن للقياس عند تركيز السكروز 100غ/لتر حيث وصل طول الأنبوب الطلعي (715 ميكرون) بعد 3 ساعات من زراعته على الوسط المغذي وقد تم قياس أطوال الأنابيب بعد 4و 5 و 24 ساعة لكن في التركيز (125غ/لتر) كان أقل من ذلك شكل (4).

وكانت أفضل النتائج التي حصلنا عليها على الوسط الزرعي حسب [11] أي في الشروط المثلى شكل (A–5). حيث كانت نسبة إنتاش حبوب الطلع تزداد بزيادة تركيز السكروز أي من 50غ/لتر إلى 75غ/لتر حتى 100غ/لتر وكانت أفضل نسبة للانتاش عند التركيز 100غ/لتر ولكن في التركيز 125غ/لتر انخفضت نسبة الانتاش بالمقارنة مع سابقتها.

وأيضاً يزداد نمو الأنبوب الطلعي طرداً مع زيادة نسبة تركيز السكروز وزمن حضنه في الحاضنة حتى ثلاث ساعات وراقبنا طول الأنابيب بعد 4 و 5 و 24 ساعة فوجدنا أنه لم يطرأ تغير على طول الإنبوب الطلعي. حيث أن للسكروز دور في تأمين الطاقة ومساهمته في تشكل الغلاف الخلوي للأنبوب الطلعي.

وقد قام عدة باحثين بدراسة تأثير تركيز السكروز في نسبة إنتاش حبات الطلع [12] وكانت أفضل نسبة للإنتاش 79.8% عند التركيز 200 غ/لتر وانخفضت إلى 1% عند التركيز 400 غ/لتر وعندما درس [10] تأثير تركيز السكروز في إنتاش حبات الطلع لاحظ أن أفضل نسبة للإنتاش كانت 98% بوجود تركيز 90 غ/لتر ولكن لم يحدث إنتاش عندما أضاف 300 غ/لتر إلى وسط الزراعة.

وكانت أفضل درجة للحرارة 25°م جدول (1) بالتراكيز المختلفة للسكروز في الأوساط الزرعية التي استخدمناها وقد تبين لنا أن ارتفاع درجة الحرارة إلى 30م° أو انخفاضها إلى 20°م لم يحسن نسبة الإنتاش ولقد بين [9] أن نسبة الإنتاش كانت منخفضة في الدرجة 15°م ولكن ارتفعت في الدرجة 25°م وأيضاً بين في أبحاثه أن نسبة الإنتاش انخفضت في الدرجة 30°م وانعدمت في الدرجة 40°م. ولاحظنا من خلال تجاربنا أنه بعد 3 ساعات من الزراعة في الشروط المثلى أي pH = 6 ودرجة حرارة 25°م وكل الشروط المؤثرة التي طبقناها مثل تأثير تركيز السكروز وتأثير تركيز البور والكالسيوم أنه يزداد نمو الأنبوب الطلعي طرداً مع الفترة الزمنية وعلى الترتيب بدءاً من 15 دقيقة و 30، 60، 120 وحتى 180 و240 و 300 دقيقة وقد تأكدنا أنه لم يزداد طول الإنبوب الطلعي وبعد 3 ساعات من المراقبة وقياس طول الأنابيب الطلعية وصل إلى 715 ميكرون وهو الحد الأقصى وبعدها توقف عن النمو (جدول 2).

2– درجة الحموضة: من خلال النتائج التي حصلنا عليها تبين لنا أن أفضل وسط لإنتاش حبوب الطلع كان عند درجة الحموضة pH = 6 وإن درجة الحموضة المنخفضة /4/ وما تحت كان الإنتاش معدوماً ثم بدأ يتحسن في الدرجة pH = 5 حتى الدرجة pH = 6 أما في الدرجة pH = 7 انخفضت نسبة الإنتاش مرة ثانية وأطوال الأنابيب الطلعية بالمقارنة مع النتائج التي حصلنا عليها في وسط الحموضة pH = 6 وكان أطولها (715) ميكرون جدول (2).

جدول (2) يوضح تأثير درجة حموضة الوسط pH في النسبة المئوية وفي متوسط طول الأنابيب الطلعية

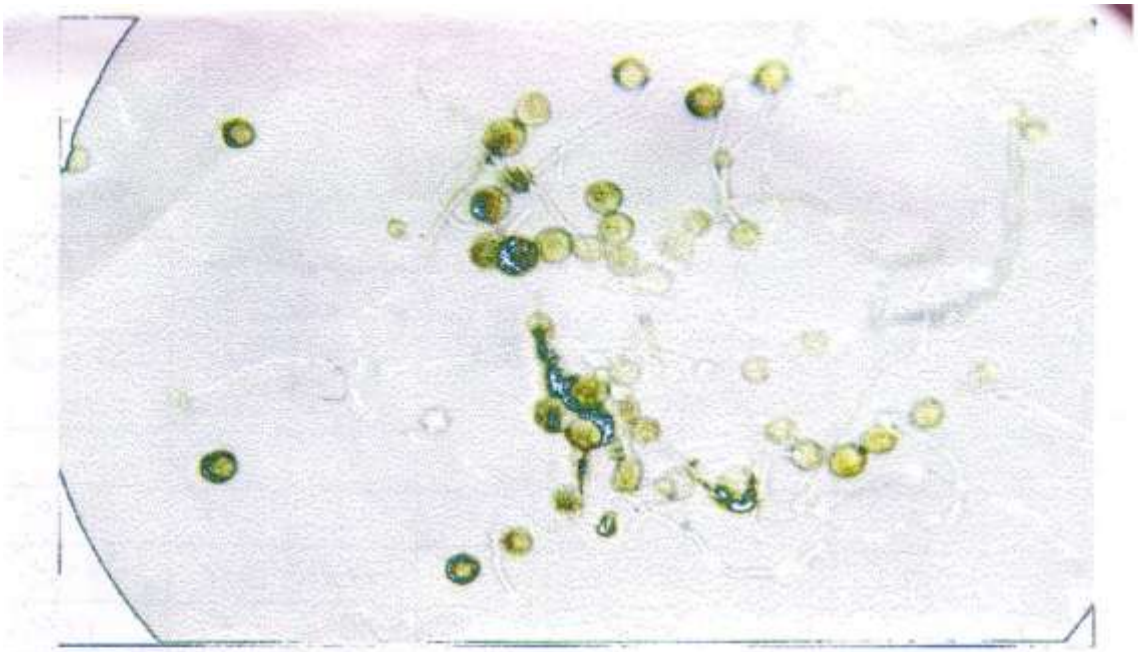
متوسط أطوال الأنابيب الطلعية في فترات مختلفة من الزرع على أوساط مغذية بالميكرون						درجة الحموضة pH	نسبة الإنتاش %
¼ سا	½ سا	1 سا	2 سا	3 سا			

0	4	0	0	0	0	0
26	5	392	225	168	62	29
88	6	715	465	295	90	73
32	7	450	320	256	50	42

ولقد تبين لنا أن درجة حموضة pH الوسط تلعب دوراً مهماً في نسبة إنتاش حبوب الطلع وكذلك في طول أنابيبها الطلعية فعند الدرجة pH = 4 لم يحدث إنتاش لحبوب الطلع في تجاربنا ولكن عند pH =5 كانت نسبة الإنتاش 26% وأفضل نتيجة حصلنا عليها كانت في الوسط pH = 6 حيث وصلت نسبة الإنتاش إلى 88% ولقد تبين لنا من خلال مقارنة نتائجنا مع بعض الأبحاث المهتمة بنفس الدراسة حيث حصل [12] على أعلى نسبة للإنتاش 83% عند نبات Brassica napus في درجة حموضة pH = 8,2 ولقد بين [13] في أبحاثه أن أفضل نسبة للإنتاش كانت في الدرجة pH = 5.5 ونسبة إنتاش 59% ولم يلاحظ إنتاش في الدرجة pH = 4 ولا في الأوساط الزرعية القلوية أي pH > 7 وذلك عند حبوب الطلع لنبات النخيل.

3- تأثير البور والكالسيوم: من خلال تجاربنا التي تضمنت إضافة البور والكالسيوم إلى الأوساط الزرعية المغذية لاحظنا إنهما عنصران ضروريان لعملية إنتاش حبوب الطلع ولتشكل الأنابيب الطلعية. ففي الوسط الخالي منهما لم يحدث إنتاش والوسط الخالي من البور كانت نسبة الإنتاش قليلة ومتوسط أطوال الأنابيب الطلعية أقل مما كان في بقية الأوساط حيث لم يتجاوز متوسط طولها (150) ميكرون. وعندما أضفنا البور بتركيز 50 ملغ/ل أو 200 ملغ/ل إلى الوسط الزرعي لم تنتش حبوب الطلع بنسبة مرتفعة مقارنة مع الوسط الأساسي (الجدول 3) ودائماً كانت النتيجة في التراكيز المرتفعة أفضل منها في التركيز المنخفض.

أما فيما يتعلق بتركيز الكالسيوم فكانت نسبة الإنتاش أفضل عندما كان 300 ملغ/لتر وأطوال أنابيب الإنتاش متساوية تقريباً مع التراكيز الأقل من 200 ملغ/لتر و 400 ملغ/لتر ولكن نسبة الإنتاش أفضل في الوسط 400 ملغ/لتر ولكن ليست كالوسط الأساسي الأصلي (100ملغ/لتر بور، 300ملغ/لتر كالسيوم).



(A)

(B)

شكل (5) A إنتاش حبوب اللقاح على الوسط الأساسي في الشروط العقم
B إنتاش حبوب اللقاح على وسط خالي من البور

جدول (3) تأثير تركيز البور والكالسيوم في متوسط طول الأنابيب الطلعية وفي النسبة المئوية للإنتاش.

الوسط الزرعي		متوسط أطوال الأنابيب الطلعية (بالميكرون) بعد فترات مختلفة من زراعتها وحضنها في الحاضنة					
تركيز البور مغ/لتر	تركيز الكالسيوم مغ/لتر	¼ ساعة 15	30 دقيقة	60 دقيقة	120 دقيقة	180 دقيقة	النسبة المئوية للإنتاش
0	0	0	0	0	0	0	0
0	300	8	10	25	68	150	4
200	300	65	280	398	420	670	35
100	0	53	268	295	310	520	22
100	200	66	300	370	365	610	40
100	400	68	315	310	360	670	55
100	300	73	90	295	465	715	88

إن الكالسيوم يلعب دوراً هاماً في زيادة قساوة الغلاف الخلوي حيث يرتبط بالمواد البكتينية لغلاف الإنبوب الطلعي وإن عنصر البور يساعد على امتصاص السكروز واستقلابه وبين [9] أن البور ضروري لإنتاش حبوب الطلع حيث ارتفعت نسبة الإنتاش عندما ازداد تركيزه من ∴ ← 10 ملغ/لتر وحصل على أفضل نتيجة عندما كان التركيز 100 مغ/لتر.

ولقد تبين لنا أن نسبة إنتاش حبوب الطلع كانت قليلة وأطوال الأنابيب الطلعية قصيرة مقارنة مع الوسط الأساسي حيث لم تتجاوز 150 /ميكرون/ شكل (5-B).

وقد بين [13] إن نسبة الإنتاش كانت 80% بعد أربع ساعات من الزرع عند نبات النخيل على وسط الإنتاش الذي لا يحوي البور ولكنه بين أن معظم حبوب الطلع كانت تملك أنبوباً قصيراً.

من خلال هذا البحث فقد استطعنا تحديد الشروط المثلى لدراسة عملية إنتاش حبوب الطلع للنوع R. circinatus وتحديد العوامل المؤثرة من درجة حرارة ودرجة حموضة الوسط وتركيز السكروز والكالسيوم والبور والفترة الزمنية على نسبة الإنتاش وطول الإنبوب الطلعي.

المراجع:

.....

1- تاختاجيان أ-ل، 1980 رتبة الضفدعيات Ranunculales من موسوعة حياة النبات الجزء الخامس-القسم الأول-موسكو، التنوير.

2- ERDTMAN, G. (1952) – pollen Morphology and plant taxonomy Angiosperms Almqvist and Wiksell, stockhholm.

3- LAYKA, S. (1976) le polymorphisme pollinique dans le genre Argemone (papaveraceae) pollen et spores, 18, n3, P. 351-375.

4- HALL, G, C., and R. E. FARMER, JR., 1971-in vitro germination of black walnut pollen. Com. J. Bot., 49, 799-802.

5- ZEIJLEMAKER, F. C. J., 1956-Growth of pollen tubes in vitro and their reaction on potential differnces. ACTA. Bot. Neet., 5(2), 179-186.

6- YATES, I. E., 1989-Hydration and temperature influence in vitro germination of pecan pollen. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 114(4), 599-605.

7- KRIST JANSDOTTIR, IS., 1990-pollen germination in vitro at low temperature in European and Andean tetraphoid potatoes. Theor. Appl. Genet., 80, 139-142.

8- VASILAKAKIS, M., and porlingis, I. C., 1985-effect of temperature on pollen germination, pollen tube growth effective pollination period and fruit set of pear. Hort Sci, 20, 733-735.

9- SFAKIOTAKIS, E. M., 1978-germination in vitro of carob (ceratonia siliqua L) Pollen. Z. Pflanzenphy-soil, bd. 89. S, 443-447.

10- CAUNEAU-PIGOT, A., 1988-Biopalynological study of lapageria rosea and iris unguicularis. Grana, 27, 297-312.

11- BREWBAKER, J. L., and KWACK, B. H., 1963-the essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. J. Bot., 50(9), 859-865.

12- MESQUIDA, J., RENARD, M, et MESQUIDA, B., 1987-etude préliminaire sur la germination. "Invitro" du pollen de colza (Brassica napusl. Var oleifera metzger) et sur l'evolution dans le temps de son aptitude à germer Agronomie 7(6), 409-416.

13- AL-HELAL, A. A., 1989-Effect of chemicals and pH on in vitro germination of date palm pollen. Arab GULF J. Scient. Res., Agric. Biol. Sci., B 7(1), 103-111.