

Research Article

The effects of heat stress on germination and growth of tomato (*Solanum lycopersicum*) pollen grains under laboratory conditionsMahvash Majdi¹, Reza Tavakkol Afshari^{1*}, Hamidreza Khazaee², Amin Mirshamsi Kakhki³**Extended abstract**

Introduction: The effects of temperature increases on the growth of tomato fields are among the obvious results of global warming and are considered an important issue that should be investigated. To maintain and develop the cultivation systems of this crop, a proper understanding of the heat tolerance mechanisms and physiological responses in tomatoes should be achieved. The primary objective of this research is to discover the impact of heat stress on the germination and growth of pollen grains in research tomato germplasms. The researchers' knowledge about the response of different tomato cultivars to abiotic stresses is limited and only the effects of enzymes involved in the response process, heat shock proteins and some hormones have been investigated. The process of detecting heat stress-sensitive stages and their enhancement is facilitated by having a correct understanding of physiological processes.

Materials and methods: The seeds of heat-resistant (LA2661 and LA2662) and -sensitive (LA3911) research cultivars of tomato were used to evaluate the effects of increasing day and night temperatures. The obtained seedlings were grown under optimal temperature conditions (24°C day/18°C night), and after observing the first flower primordium, were incubated in growth chambers to apply daytime heat stress treatments, including temperatures of 28°C, 32°C and 36°C day/18°C night and night stress treatments including temperatures of 28°C, 32°C, and 36°C at night/ 24°C day for 7 days. Pollen grains were then evaluated for their survival, germination, and growth.

Results: The findings of the daytime heat stress tests show that the percentage of survival and germination of pollen grains and growth of pollen tubes of cultivars LA2661, LA2662 and LA3911 decreased as daytime temperature rose from 24°C to 36°C. This reduction is more noticeable for the sensitive cultivar LA3911. Degraded pollen grains increased in the LA3911 cultivar due to heat stress. The survival percentage of pollen grains in all three studied cultivars decreased due to the application of heat stress at night. The resistant cultivars LA2661 and LA2662 had a higher germination percentage compared to the sensitive cultivar LA3911. Pollen grains germination decreased by 50% as a result of increasing the night temperature from 18°C to 36°C. Pollen tube length was reduced in both cultivars and night treatments.

Conclusion: The effects of heat stress in the early stages of flowering when flowers are visible are high, and reproductive stages are very sensitive to high temperatures and affect fertility and processes after insemination, and finally, they lead to yield loss. The daytime temperature increase relative to the natural temperature range (22°C to 24°C) during growth severely impacts the number of pollen grains released from tomato flowers. The number of non-living pollen grains is higher at 36°C day and 32°C and 36°C night temperatures compared to optimal temperature conditions. It appears that the increase in nighttime temperature results in more severe consequences than the increase in daytime temperature.

Keywords: Day temperature, Night temperature, Pollen grain, Pollen tube growth, Survival

Highlights:

- 1- Night heat stress was assessed as a factor that influences the germination and survival of tomato pollen grains.
- 2- Image analysis was used to measure the length of the pollen tube.
- 3- The effect of thermal stress on pollination was investigated during a specific period of reproductive growth.

¹Ph.D. student, Department of Agrotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

²Professor, Department of Agrotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

³Assistant Professor, Department of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

*Corresponding author, E-mail: tavakolafshari@um.ac.ir

Received: 27.1.2024; Revised: 13.2.2024;
Accepted: 14.2.2024; Online Published: 17.3.2024

DOR:

[DOI: 10.61186/yujrs.10.2.137](https://doi.org/10.61186/yujrs.10.2.137)

CrossMark

[ISSN: 2383-1480 \(On-Line\); 2383-1251 \(Print\)](https://doi.org/10.61186/yujrs.10.2.137)

Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

مقاله پژوهشی

اثر تنش گرما بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌های گرده گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) در شرایط آزمایشگاهیمهوش مجدی^۱، رضا توکل افشاری^{۲*}، حمیدرضا خزاعی^۳، امین میرشمسی کاخکی^۲

چکیده مبسوط

مقدمه: آثار افزایش دما بر رشد مزرعه‌ای گوجه‌فرنگی از نتایج مشهود گرمایش جهانی است و از مسائل مهمی به‌شمار می‌آید که باید مورد بررسی قرار گیرد. جهت حفظ و توسعه سامانه‌های کشت این گیاه زراعی باید به‌فهم درستی از سازوکارهای تحمل به گرما و پاسخ‌های فیزیولوژیکی در گوجه‌فرنگی دست یافت. هدف اصلی این پژوهش، بررسی تأثیر تنش گرمایی بر جوانه‌زنی و رشد دانه‌های گرده ژرم‌پلاسم‌های تحقیقاتی گوجه‌فرنگی می‌باشد. دانش محققین در ارتباط با پاسخ ارقام مختلف گوجه‌فرنگی به تنش‌های غیرزنده اندک بوده و تنها آثار آزمون‌های دخیل در فرآیند پاسخ، پروتئین‌های شوک حرارتی و برخی هورمون‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. از این‌رو رسیدن به درک درستی از فرآیندهای فیزیولوژیکی، مسیر تشخیص مراحل حساس به تنش گرمایی و بهبود آنان را تسهیل می‌سازد.

مواد و روش‌ها: بذرها: ارقام تحقیقاتی مقاوم (LA2661 و LA2662) و حساس (LA3911) به تنش گرمایی گوجه‌فرنگی، به منظور ارزیابی آثار افزایش دمای روز و شب مورد استفاده قرار گرفت. گیاهچه‌های بدست آمده در شرایط دمایی بهینه (۲۴°C/روز/۱۸°C/شب) رشد کرده و پس از مشاهده اولین آغازه گل جهت اعمال تیمارهای تنش گرمایی روز شامل دماهای ۲۸°C، ۳۲°C و ۳۶°C/روز/۱۸°C/شب و تیمارهای تنش گرمایی شب شامل دماهای ۲۸°C، ۳۲°C و ۳۶°C/شب/۲۴°C/روز به مدت ۷ روز به داخل اتاقک‌های رشد انتقال یافتند؛ سپس زنده‌مانی، جوانه‌زنی و رشد دانه‌های گرده ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج آزمون‌های اعمال تنش گرمایی روز نشان می‌دهد که درصد زنده‌مانی و جوانه‌زنی دانه‌های گرده و رشد لوله‌گرده ارقام LA2661، LA2662 و LA3911 با افزایش دمای روز از ۲۴°C به ۳۶°C کاهش می‌یابد که این کاهش برای رقم حساس LA3911 بیشتر است. همچنین، تنش گرمایی سبب افزایش دانه‌های گرده تجزیه شده در رقم LA3911 شد. اعمال تنش گرمایی شب نیز، سبب کاهش درصد زنده‌مانی دانه‌های گرده هر سه رقم مورد مطالعه شد. ارقام مقاوم LA2661 و LA2662 درصد جوانه‌زنی بیشتری نسبت به رقم حساس LA3911 داشتند. همچنین افزایش دمای شب از ۱۸°C به ۳۶°C سبب کاهش ۵۰ درصدی جوانه‌زنی دانه‌های گرده شد. کاهش طول لوله‌گرده، در تمامی ارقام و تیمارهای شب نیز، مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: آثار تنش گرما در مراحل اولیه گلدهی که گل‌ها قابل مشاهده‌اند، زیاد می‌باشد و مراحل زایشی به‌دمای بالا بسیار حساس بوده و بر باروری و فرآیندهای بعد از تلقیح اثر می‌گذارد و در نهایت سبب کاهش عملکرد می‌شوند. تعداد دانه‌های گرده آزاد شده از گل گوجه‌فرنگی به‌شدت تحت تأثیر افزایش دمای روز نسبت به‌محدوده دمایی طبیعی (۲۲°C تا ۲۴°C) رشد است. همچنین تعداد دانه‌های گرده غیرزنده در دمای ۳۶°C روز و دماهای ۳۲°C و ۳۶°C شب بالا نسبت به‌شرایط دمایی بهینه بیشتر است و به‌نظر می‌رسد افزایش دمای شب آثار جبران‌ناپذیرتری نسبت به افزایش دمای روز ایجاد می‌کند.

واژه‌های کلیدی: دانه‌گرده، درجه حرارت روز، درجه حرارت شب، رشد لوله‌گرده، زنده‌مانی

جنبه‌های نوآوری:

- ۱- تنش گرمای شب به عنوان عامل اثرگذار بر جوانه‌زنی و زنده‌مانی دانه‌های گرده گوجه‌فرنگی ارزیابی گردید.
- ۲- طول لوله‌گرده با استفاده از آنالیزهای تصویری اندازه‌گیری شد.
- ۳- تنش گرمایی در دوره خاصی از رشد زایشی اعمال و اثر آن بر گرده‌افشانی بررسی شد.

^۱ دانشجوی دکتری، گروه آگروتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد،

ایران.

^۲ استاد گروه آگروتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

^۳ استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

DOR:

[DOI: 10.61186/yujs.10.2.137](https://doi.org/10.61186/yujs.10.2.137)

CrossMark

رایانامه نویسنده مسئول: tavakolafshari@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۷؛ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۲۵؛ تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷

شاپا: ۱۴۸۰-۲۳۸۳ (برخط): ۱۲۵۱-۲۳۸۳ (چاپی)

مقدمه

روز ادامه می‌یابد. گامتوژنز^۶ اندام نر و ماده هر دو به تنش گرما حساس می‌باشند (ژو^۷ و همکاران، ۲۰۱۷). جوانه‌زنی دانه‌گرده با افزایش دما به بیش از ۲۴°C و با اثر بر رشد لوله‌گرده، کاهش می‌یابد. در محدوده دمای شب از ۱۸°C، ۲۰°C، ۲۲°C و ۲۶°C بیشترین جوانه‌زنی دانه‌گرده در دمای ۱۸°C شب بوده است (راجیمیتو^۸ و همکاران، ۲۰۲۱). در شب‌هایی با دمای بالا دانه‌گرده چروکیده شده و موجب کاهش زنده‌مانی دانه‌گرده می‌شود (دین^۹ و همکاران، ۲۰۱۵).

تنش گرمایی سبب بروز ناهنجاری‌هایی در دانه‌گرده می‌شود که شامل کوچک شدن، چروکیدگی شدن و خالی شدن دانه‌های گرده، کاهش تولید و باروری دانه‌گرده در اوایل گلدهی است؛ همچنین تنش گرمایی سبب کاهش زنده‌مانی دانه‌های گرده نخودفرنگی (دواسیروواتام^{۱۰} و همکاران، ۲۰۱۲)، برنج (جگادیش^{۱۱} و همکاران، ۲۰۱۴)، پنبه (سانگ^{۱۲} و همکاران، ۲۰۱۵)، گوجه‌فرنگی (بھاتارای^{۱۳} و همکاران، ۲۰۲۱)، فلفل (اریکسون^{۱۴} و همکاران، ۲۰۰۲) و کتان (کراس^{۱۵} و همکاران، ۲۰۰۳) شده است. مطالعات نشان دهنده کاهش درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده در بسیاری از گیاهان زراعی از جمله سویا (دینگ^{۱۶} و همکاران، ۲۰۱۹)، لوبیاچشم‌بلیلی (دواسیروواتام و همکاران، ۲۰۱۲)، سورگوم (سینگ^{۱۷} و همکاران، ۲۰۱۶)، نخود زراعی (جیانگ^{۱۸} و همکاران، ۲۰۱۵)، و کلزا (موریسون^{۱۹} و همکاران، ۲۰۱۶) در برخورد با تنش گرمایی است. گرده‌افشانی موفق به دانه‌گرده زنده‌ای نیاز دارد که توسط سطح کلالة مادگی شناسایی و آب را جذب کرده باشند؛ درک چگونگی گرده‌افشانی و غربالگری دانه‌های گرده در جهت یافتن دانه‌گرده و بذر

تنش‌های غیرزنده (گرما، خشکی، سرما و شوری) به‌طور معمول باهم روی می‌دهند، اما اعمال آنان چه به‌صورت منفرد و یا با یکدیگر، سبب ایجاد تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی می‌شود که آثار منفی بر رشد و تولید گیاهان دارد. نوسان‌های دمایی به‌طور معمول در دوران رشد و گرده‌افشانی گیاهان روی می‌دهند (زو^۱ و همکاران، ۲۰۱۷). افزایش خطرات تغییرات اقلیمی آثار بزرگی بر تولیدات کشاورزی در جهان گذاشته است و موج‌های گرما سبب کاهش معنی‌دار عملکرد محصولات و به‌خطر افتادن امنیت غذایی جهانی شده است (زاندالیناس^۲ و همکاران، ۲۰۲۱). بالا رفتن دمای هوا موجب تغییر در توزیع جغرافیایی و فصل رشد گیاهان زراعی خواهد شد و در چنین شرایطی فصل رشد زودتر آغاز شده و گیاهان زودتر به‌مرحله رسیدگی می‌رسند. گیاهان زراعی دانه‌ای شامل بذرهای روغنی، غلات، حبوبات و سبزیجات در معرض آسیب‌های مزرعه‌ای دماهای گرم می‌باشند (بگسی و دراسله‌اوس^۳، ۲۰۱۸). رشد زایشی در بسیاری از گیاهان به‌درجه حرارت حساس بوده و به‌طور معمول دماهای بیشتر از ۳۰°C را نمی‌توانند تحمل کنند که سبب کاهش گرده‌افشانی، از بین رفتن جنین، کاهش بذر و کاهش عملکرد محصولات می‌شود (بیوکرت^۴ و همکاران، ۲۰۱۵).

آثار افزایش دما بر رشد مزرعه‌ای گوجه‌فرنگی از نتایج مشهود گرمایش جهانی است و از مسائل مهمی به‌شمار می‌آید که باید مورد بررسی قرار گرفته شود (درای‌دونکس^۵ و همکاران، ۲۰۱۶). جهت حفظ و توسعه سامانه‌های کشت این گیاه زراعی باید به‌فهم درستی از سازوکارهای تحمل به‌گرما و پاسخ‌های فیزیولوژیکی در گوجه‌فرنگی دست یافت (زاندالیناس و همکاران، ۲۰۲۱). مطالعات گلخانه‌ای نشان می‌دهد که آثار تنش گرما در مراحل اولیه‌ی گلدهی که گل‌ها قابل مشاهده‌اند، زیاد می‌باشد و این حساسیت تا ۱۰ الی ۱۵

⁶ Gametogenesis

⁷ Zhou

⁸ Rajametov

⁹ Din

¹⁰ Devasirvatham

¹¹ Jagadish

¹² Song

¹³ Bhattarai

¹⁴ Erickson

¹⁵ Cross

¹⁶ Ding

¹⁷ Singh

¹⁸ Jiang

¹⁹ Morrison

¹ Xu

² Zandalinas

³ Begcy & Dresselhaus

⁴ Bueckert

⁵ Driedonks

عامل اصلی به صورت تصادفی روی هر اتاقک رشد تنظیم گردید و در هر سطح دمایی ۳ رقم تحقیقاتی گوجه‌فرنگی به عنوان عامل فرعی درون اتاقک رشد قرار گرفت. در ادامه همین آرایش قرار گرفتن عامل‌های آزمایش چهار بار به عنوان چهار بلوک تکرار گردید.

تیمارهای اعمال تنش گرمایی: پس از ظهور اولین آغازی گل (مشاهده کد رشدی ۵۱)، جهت اعمال شرایط تنش گرمایی روز گیاهان به اتاقک‌های رشد با دماهای 28°C ، 32°C و 36°C روز و دمای ثابت 18°C شب و جهت اعمال شرایط تنش گرمایی شب به دماهای 28°C ، 32°C و 36°C شب و دمای ثابت 18°C روز، منتقل شدند و به مدت هفت روز در این شرایط باقی‌ماندند. گیاهان شاهد نیز، در همان شرایط تنظیم شده و در دمای بهینه رشد باقی‌ماندند.

بررسی زنده‌مانی دانه‌های گرده: هم‌زمان با بازشدن اولین گل (کد رشدی ۶۱)، نمونه‌های دانه‌گرده جمع‌آوری شده و با استفاده از محلول فلئورسین دی‌استات^۶ متشکل از محلول پایه FDA در محلول ساکارز ۱۰ درصد، به نسبت ۱:۲۵ رنگ آمیزی شدند. دانه‌های گرده با ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رنگ‌آمیزی مخلوط شدند و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون بدست آمده در دمای اتاق و روی لام میکروسکوپ تثبیت شدند (شیوانا^۷، ۲۰۰۳). سپس دانه‌های گرده رنگ‌آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس^۸ و فیلتر ۰۹ در طیف تابشی ۴۵۰ تا ۴۹۰ نانومتر و گسیل ۵۱۵ نانومتر تصویربرداری شدند. سپس دانه‌های گرده زنده به صورت لکه‌های سبز رنگ روشن و دانه‌های گرده غیرزنده و تجزیه شده به صورت لکه‌های تیره رتبه‌بندی شدند (شکل ۱). تصاویر بدست آمده با استفاده از نرم افزار ویرایش تصویر Image J 1.52v، بررسی و شمارش شدند.

مقاوم در میان ژرم‌پلاسماهای موجود، سبب تعیین گونه‌های گوجه‌فرنگی متحمل به تنش گرمایی پیش‌رو خواهد شد (سان^۱ و همکاران، ۲۰۱۶). هدف این پژوهش، تعیین آستانه دمای بحرانی در طول روز و شب می‌باشد که در آن دما، درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده گوجه‌فرنگی در شرایط تنظیم شده با استفاده از بررسی ارقام مقاوم و حساس به تنش گرمایی، رو به کاهش است.

مواد و روش‌ها

بذرهای ارقام گوجه‌فرنگی متحمل به تنش گرمایی با نام‌های تحقیقاتی LA2661 و LA2662 و رقم حساس به تنش گرمایی با نام تحقیقاتی LA3911 از مرکز منابع ژنتیکی گوجه‌فرنگی در دانشگاه دیویس آمریکا^۲ تهیه و برای این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. بذرها در گلدان‌هایی با حجم ۲ لیتر در بستر کشت حاوی ۳۰ درصد شن، ۳۹ درصد سیلت و ۳۱ درصد رس حاوی ۲۸ درصد ماده آلی در اسیدیته ۵/۳ کشت و در ابتدای رشد از محلول غذایی هوگلند^۳ به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر در هر گلدان استفاده شد. گیاهان در شرایط تنظیم شده با دمای بهینه رشد، 24°C در روز و 18°C در شب (کامجو^۴ و همکاران، ۲۰۰۵) و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با تشعشع ۴۵۰ تا ۵۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع بر ثانیه با رطوبت نسبی ۶۰ درصد در داخل اتاقک رشد قرار گرفتند. در طی دوره رشد، رطوبت متوسط خاک به‌دقت مهار و در صورت نیاز برای جلوگیری از تنش خشکی، گیاهان با آب مقطر آبیاری شدند. به‌منظور افزایش دقت در بررسی مراحل رشدی گیاه گوجه‌فرنگی از کاشت بذر تا انتهای رشد، پژوهش براساس کد رشدی BBCH^۵ انجام پذیرفت. آزمایش‌ها به صورت کرت‌های کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. به‌این منظور از ۴ اتاقک رشد جداگانه استفاده شد. چهار تیمار دما به عنوان

¹ Sun

² Tomato Genetics Resource Center (TGRC)

³ Hoagland's culture solution

⁴ Camejo

⁵ Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt Chemical industry

⁶ Fluorescein diacetate

⁷ Shivanna

⁸ Zeiss GmbH, Göttingen, Germany



شکل ۱- ارزیابی زنده‌مانی دانه‌گرده و طبقه‌بندی آنان در گروه ۱ (زنده) و گروه ۲ (غیرزنده یا تجزیه شده)؛ رنگ‌آمیزی با استفاده از فلئورسین‌دی‌استات و تصویربرداری توسط میکروسکوپ فلورسانس (ZEISS GMBH, GÖTTINGEN, GERMANY) انجام شده است.

Figure 1. Evaluation of the viability of pollen grains and their classification into group 1 (viable) and group 2 (non-viable or degraded); Staining was done using fluorescein diacetate and imaging by fluorescence microscope (Zeiss GmbH, Göttingen, Germany).

تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.2 انجام شد. اختلاف میانگین‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) با سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد بررسی و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج و بحث

ارزیابی زنده‌مانی دانه‌های گرده در شرایط

تنش گرمایی روز: بررسی زنده‌مانی دانه‌های گرده با استفاده از رنگ‌آمیزی FDA و گروه‌بندی آنان به دانه‌های گرده زنده، غیرزنده و تجزیه شده در شکل ۲، نمایش داده شده است. در شرایط دمایی 24°C ، زنده‌مانی دانه‌های گرده برای رقم LA2661، ۶۱ درصد، رقم LA2662، ۶۵ درصد و برای رقم LA3911، ۶۳ درصد می‌باشد. همچنین در ارقام LA2661 و LA2662 تعداد دانه‌های گرده غیرزنده نسبت به تجزیه شده بیشتر است در حالی که در رقم حساس LA3911، تعداد دانه‌های گرده تجزیه شده بیشتر می‌باشد. با افزایش دما از 24°C به 36°C ، کاهش زنده‌مانی

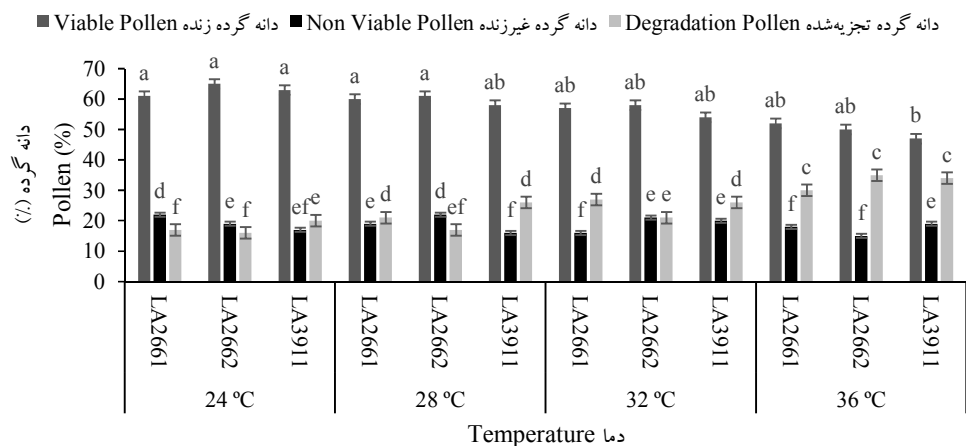
بررسی توان زیستی و جوانه‌زنی دانه‌های گرده:

جوانه‌زنی، رشد و تشکیل لوله‌گرده با استفاده از محیط کشت معرفی شده توسط لاهلالی^۱ و همکاران (۲۰۱۴) مورد آزمون قرار گرفت. دانه‌های گرده تازه از بساک گل‌های در حال شکفته‌شدن تهیه شده و روی لام‌های میکروسکوپی دارای ۳ قطره محیط کشت مناسب جوانه‌زنی، پراکنده شدند و جداگانه داخل پتری‌های ۹ سانتی‌متری دارای کاغذ صافی مرطوب و روی حائل، قرار داده شدند. ظروف پتری با استفاده از پارافیلیم^۲ مهر و موم شده و در ژرminatور در شرایط دمایی تیمارهای تنش گرمایی به مدت ۱۰ ساعت برای انکوباسیون قرار گرفتند. جهت مشاهده جوانه‌زنی، ۱۰۰ دانه‌گرده برای هر تکرار با استفاده از میکروسکوپ نوری در بزرگ‌نمایی‌های 1000X- 4000X استفاده شد. براساس نظر سالم و همکاران (۲۰۰۷) دانه‌های گرده‌ای جوانه‌زده در نظر گرفته شدند که طول لوله‌گرده آنان بیشتر از قطر دانه‌گرده مشاهده شده است (هفید^۳ و همکاران، ۲۰۱۸). جهت اندازه‌گیری طول لوله‌گرده نیز، ۳۰ دانه‌گرده به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از نرم‌افزار Image J مورد بررسی قرار گرفتند.

¹ Lahlali

² Parafilm

³ Hafidh



شکل ۲- ارزیابی تعداد دانه‌های گرده زنده، غیرزنده و تجزیه‌شده در رقم حساس به تنش گرمایی LA3911 و ارقام مقاوم به تنش گرمایی LA2661، LA2662، در دمای بهینه ۲۴°C روز و تیمارهای تنش گرمایی ۲۸°C، ۳۲°C و ۳۶°C روز (دمای ثابت ۱۸°C شب) در شرایط رشدی کنترل شده.

Figure 2. Evaluation of viable, non-viable and degraded pollen grains numbers in heat stress-sensitive cultivar LA3911 and heat stress-resistant cultivars LA2661, LA2662, at the optimal temperature of 24°C for days and heat stress treatments of 28°C, 32°C and 36°C days (constant temperature 18°C at night) under controlled growth conditions.

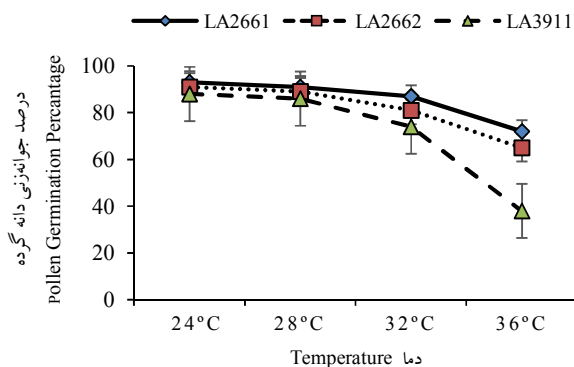
LA3911 شد (شکل ۳). درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده رقم LA2661 در دمای بیشینه ۳۶°C به‌میزان قابل توجهی نسبت به دو رقم دیگر بیشتر است.

پس از گذشت ۱۰ ساعت از انکوباسیون، تنش گرمایی سبب کاهش طول لوله‌گرده شد (شکل ۴). به‌طور مثال، رشد لوله‌گرده زمانی که دما از ۲۴°C به ۳۶°C افزایش یافت، از ۷۸۳µm به ۱۰۲µm کاهش پیدا کرد. اگرچه، رشد لوله‌گرده در جوانه‌زنی‌های موفق بین دو تیمار مقاوم به تنش گرمایی تفاوتی نداشت (جدول ۲). جیانگ و همکاران (۲۰۱۹) با اعمال تنش گرمایی ۳۰°C روز بر روی نخود زراعی، دینگ و همکاران (۲۰۱۹) با اعمال تنش گرمایی ۴۷°C روز بر روی سویا، سیتا^۱ و همکاران (۲۰۱۷) با اعمال تنش گرمایی ۳۷°C روز روی نخود، سینگ و همکاران (۲۰۱۶) با اعمال تنش گرمایی ۴۳°C روز روی سورگوم و موریسون و همکاران (۲۰۱۶) با اعمال تنش گرمایی ۳۳°C روز روی کلزا نیز، نتایج مشابهی را در ارتباط با کاهش رشد لوله‌گرده گزارش کردند.

دانه‌های گرده در هر سه رقم مشاهده شد، اما این کاهش در رقم LA3911 (۲۰ درصد) نسبت به دو رقم LA2661 و LA2662 مشهودتر است. تنش گرمایی همچنین سبب افزایش دانه‌های گرده تجزیه‌شده در رقم LA3911 شد، درحالی که در درصد دانه‌های گرده غیرزنده تفاوت معنی‌داری ایجاد نشده است. در بین دو رقم LA2661 و LA2662 تفاوت معنی‌داری در تیمارهای دمایی مشاهده نمی‌شود، اما افزایش دما به بیش از ۳۲°C سبب کاهش زنده‌مانی دانه‌های گرده با اختلاف کمتری نسبت به رقم LA3911 است.

ارزیابی درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده در شرایط تنش گرمایی روز: با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) و مقایسه میانگین (جدول ۲)، جوانه‌زنی دانه‌گرده، که به‌عنوان شاخص زنده‌ماندن دانه‌گرده عمل می‌کند، بسته به رقم، به‌دماهای بالا پاسخ متفاوتی داد (شکل ۳). دمای بالا سبب کاهش درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده پس از گذشت ۱۰ ساعت از انکوباسیون (افزایش دما از ۲۴°C به ۳۶°C) به‌میزان تقریبی ۲۰ درصد برای رقم LA2661، ۳۰ درصد برای رقم LA2662 و ۵۰ درصد برای رقم

¹ Sita



شکل ۳- اثر دماهای مختلف روز (اعمال دما به مدت ۱۰ ساعت) بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده ارقام LA2661، LA2662 و LA3911 در شرایط آزمایشگاهی. هر کدام از داده‌ها میانگین چهار عدد می‌باشد که توسط استاندارد بار نشان داده شده است.

Figure 3. The effect of different daily temperatures (applying temperature for 10 hours) on the pollen grain germination percentage of LA2661, LA2662 and LA3911 under laboratory conditions. Each data point is the average of four numbers shown by the standard bar.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر رقم و دمای روز بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده.

Table 1. Analysis of variance for the effect of cultivar and day temperature on the percentage of pollen grain germination and pollen tube growth.

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square	
		دانه‌گرده جوانه‌زده Germinated pollen	طول لوله‌گرده Pollen tube length
بلوک Block	3	9012 ^{n.s}	10184 ^{n.s}
دما Temperature	3	53909 ^{**}	13419 ^{n.s}
خطا ۱ Error 1	9	7027	11022
رقم Cultivar	2	7048 ^{**}	6404 ^{**}
دما × رقم Cultivar × Temperature	6	6774 ^{**}	1033 ^{n.s}
خطا ۲ Error 2	24	427	665

ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای یک درصد.

ns and ** indicate not significant and the significant differences at 1% error probability level, respectively.

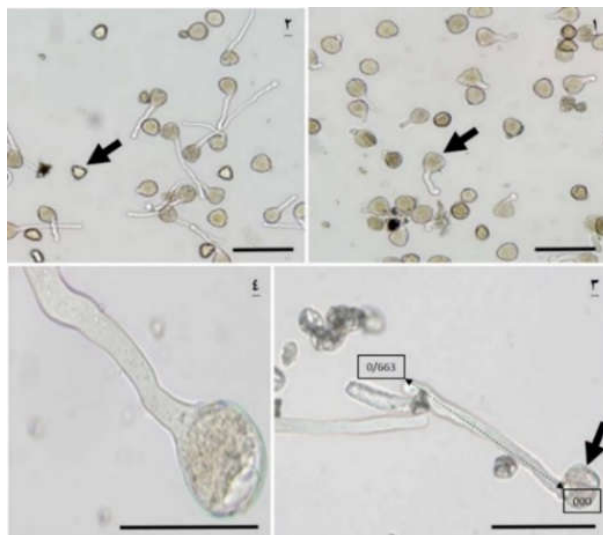
جدول ۲- مقایسه میانگین اثر رقم و دمای روز بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده.

Table 2. Mean comparison of the effect of cultivar and day temperature on the percentage of pollen grain germination and pollen tube growth.

تیمار Treatment	طول لوله‌گرده (mm) Pollen tube length (mm)	دانه‌گرده جوانه‌زده (%) Germinated pollen grains (%)
رقم Cultivar		
LA2661	0.477 ^a	80.4 ^a
LA2662	0.465 ^a	83.6 ^a
LA3911	0.463 ^a	75.3 ^b
دما Temperature		
24°C	0.783 ^a	90.3 ^a
28°C	0.618 ^b	89.9 ^a
32°C	0.291 ^c	81.4 ^b
36°C	0.102 ^d	47.9 ^c

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means in each column with similar letters are not significantly different based on the LSD test at 5%



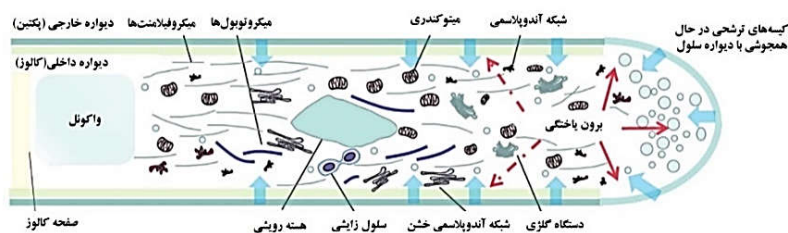
شکل ۴-۱) جوانه‌زنی دانه‌گرده رقم LA3911 در دمای 36°C در شرایط آزمایشگاهی (نوک پیکان نشان‌دهنده دانه‌گرده طبیعی سه‌شیاره و در حال جوانه‌زنی است)، ۲) جوانه‌زنی دانه‌گرده رقم LA2662 در دمای 36°C در شرایط آزمایشگاهی (نوک پیکان نشان‌دهنده دانه‌گرده تجزیه‌شده است)، ۳) اندازه‌گیری رشد لوله‌گرده رقم LA2661 در دمای 28°C (اندازه لوله‌گرده 0.663mm است) و ۴) تصویر بزرگ شده دانه‌گرده تصویر شماره ۳ (مقیاس $50\ \mu\text{m}$).

Figure 4. 1) Pollen grain germination of LA3911 at 36°C under laboratory conditions (the arrowhead indicates the tricolpate natural pollen grain, and it is germinating), 2) Pollen grain germination LA2662 at temperature of 36°C under laboratory conditions (the arrowhead indicates the degradation pollen grain), 3) Measuring the growth of the pollen tube of the LA2661 at temperature of 28°C (the size of the pollen tube is $0.663\ \text{mm}$) and 4) Enlarged image of pollen grain in image 3 (scale $50\ \mu\text{m}$).

همکاران، ۲۰۱۹). به نظر می‌رسد فرارگیری در معرض تنش گرمایی که با افزایش فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن همراه است، تجمع و شار الکتریکی یون کلسیم در نوک لوله‌گرده را دچار اختلال کرده و این مورد سبب کاهش رشد لوله‌گرده می‌شود. همچنین فعالیت مطلوب عوامل دیگری مانند پروتئین‌ها، ساختار اسکلت سلولی، هم‌جوشی کیسه‌های ترش‌حی با نوک لوله‌گرده، سفت شدن دیواره سلولی و تغییرات اسیدیته سیتوپلاسم (شکل ۵) که تحت تاثیر تنش گرمایی قرار می‌گیرند نیز، بر نوسانات رشد لوله‌گرده اثرگذار می‌باشند. به‌طور کلی رشد لوله‌گرده همبستگی منفی با دما دارد. جیانگ و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که طول لوله‌گرده در نخود زراعی از $1/2\text{mm}$ در دمای 24°C به مقدار 0.08mm به ازای هر 1°C افزایش دمای روز، کاهش پیدا می‌کند.

لوله‌گرده دارای دیواره سلولی دولایه منحصربه‌فردی است که دیواره بیرونی آن از رسوب رشته‌های پکتین تشکیل شده است و در هنگام رشد لوله‌گرده، رشته‌های پکتین توسط کیسه‌های ترش‌حی دستگاه گل‌زی به نوک لوله‌گرده حمل شده و در اثر هم‌جوشی غشاء کیسه‌ها با دیواره لوله‌گرده، وارد ساختار دیواره می‌شوند. دیواره داخلی لوله‌گرده از جنس پلی‌ساکارید کالوز که یک (۳،۱) بتا-گلوکان است، در نوک لوله‌گرده ایجاد و با حرکت رو به عقب در ساختار دیواره جای می‌گیرد و این مورد سبب ایجاد قطبیت در لوله‌گرده می‌شود. حضور یون کلسیم در ایجاد قطبیت نوک لوله‌گرده بسیار مؤثر است و افزایش جریان حرکت این یون به سمت نوک لوله، سبب رشد لوله‌گرده می‌شود (شکل ۵). همبستگی مثبتی بین مقدار یون کلسیم موجود در نوک لوله‌گرده و نوسانات سرعت رشد لوله‌گرده وجود دارد (ژنگ^۱ و

¹ Zheng



شکل ۵- رشد لوله‌گرده. قسمت عمده برون‌یاختگی در ناحیه نوک لوله‌گرده روی می‌دهد که با پیکان‌های قرمز رنگ نمایش داده شده است (پیکان‌های منقطع برون‌یاختگی در سایر نواحی را نشان می‌دهد). درون‌یاختگی نیز با پیکان‌های آبی رنگ در طول لوله‌گرده (در محل شبکه‌های آندوپلازمی) نمایش داده شده است. نوسانات رشد لوله‌گرده به‌طور عمده در ناحیه نوک لوله‌گرده بوده و تحت تاثیر غلظت یون کلسیم قرار می‌گیرد (برگرفته از ژنگ و همکاران (۲۰۱۹)).

Figure 5. Pollen tube growth. Most of the outgrowth occurs in the tip of the pollen tube, which is shown by red arrows (dashed arrows show outgrowth in other areas). Endogenesis is also shown with blue arrows along the length of the pollen tube (at the location of the Endoplasmic reticulum). Fluctuations in the growth of the pollen tube are mainly in the tip of the pollen tube and are influenced by the concentration of calcium ions. (Taken from Zheng *et al.* (2019)).

ارزیابی درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد

لوله‌گرده در شرایط تنش گرمایی شب: ارزیابی داده‌های بدست‌آمده از پارامترهای درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده در جدول ۳ نشان می‌دهد که اثر رقم و دما به‌طور مجزا و اثر متقابل آنان، بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده اثر معنی‌داری دارد. ارقام مقاوم LA2661 و LA2662 درصد جوانه‌زنی بیشتری نسبت به رقم حساس LA3911 دارند. همچنین افزایش دمای شب از 18°C به 36°C سبب کاهش ۵۰ درصدی جوانه‌زنی دانه‌گرده شده است (شکل ۷).

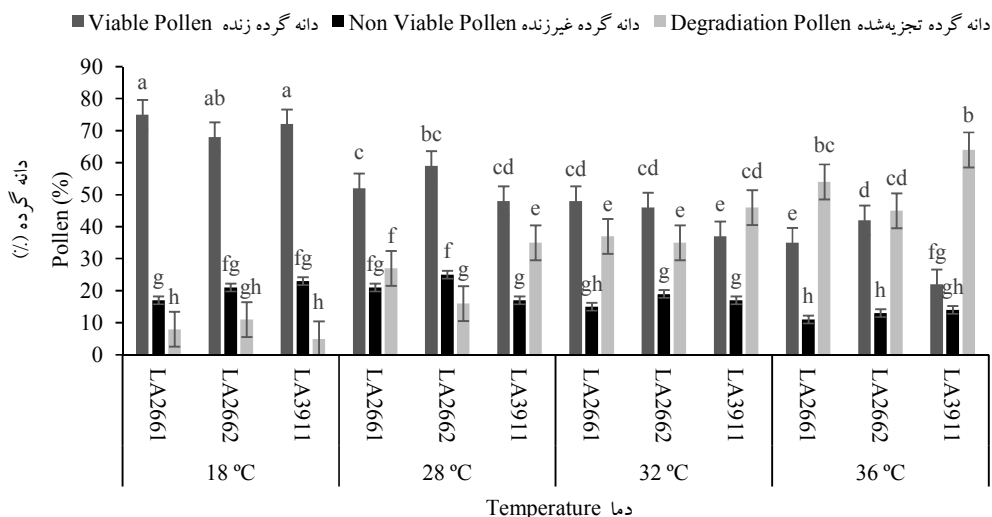
رشد لوله‌گرده نیز، تحت تاثیر تیمارهای تنش گرمایی شب کاهش داشته است به‌طوری که از ۰/۸۱۱ میلی‌متر در دمای 18°C به ۰/۳۳۲ میلی‌متر در دمای 36°C رسیده است که در مقایسه با تیمار تنش گرمایی 36°C روز، بیشتر است (جدول ۴). نوع رقم (مقاوم و حساس به تنش گرمایی) بر رشد لوله‌گرده اثر معنی‌داری نداشته است.

دجاناگیورامن و همکاران (۲۰۱۴)، با اعمال تنش گرمایی 26°C شب بر روی گیاه سورگوم زراعی، با کاهش

ارزیابی زنده‌مانی دانه‌های گرده در شرایط

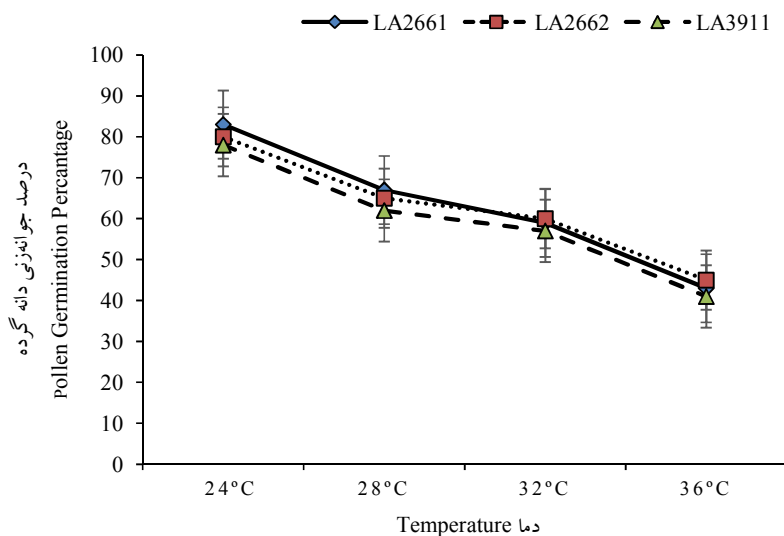
تنش گرمایی شب: بررسی زنده‌مانی دانه‌های گرده با استفاده از رنگ‌آمیزی FDA و گروه‌بندی آنان به دانه‌های گرده زنده، غیرزنده و تجزیه شده در شکل ۶ نمایش داده شده است. در شرایط دمایی بهینه (24°C روز/ $^{\circ}\text{C}$ -) ۱۸ شب) درصد زنده‌مانی دانه‌های گرده برای هر سه رقم مورد مطالعه در محدوده ۷۰ درصد می‌باشد که با درصد زنده‌مانی مشاهده شده برای ارزیابی تنش گرمایی روز مطابقت دارد و این معیار برای هر سه رقم مورد مطالعه با افزایش دما در تیمارهای تنش گرمایی به‌کمتر از ۴۰ درصد رسیده است. نتایج این بخش با گزارش‌های دجاناگیورامن^۱ و همکاران (۲۰۱۳) با اعمال تنش گرمایی 26°C شب بر روی گیاه سورگوم زراعی مطابقت داشته و آنان نیز کاهش ۳۰ درصدی زنده‌مانی دانه‌های گرده سورگوم در پاسخ به افزایش دمای شب را مشاهده کرده‌اند. تعداد دانه‌های گرده غیرزنده نسبت به تجزیه‌شده در شرایط دمایی بهینه 18°C شب و تیمار تنش گرمایی 24°C بیشتر است، اما افزایش دمای شب به 28°C و 32°C سبب افزایش تعداد دانه‌های گرده تجزیه‌شده نسبت به غیر زنده شده است که این افزایش در رقم LA3911 مشهودتر است (شکل ۶).

¹ Djanaguiraman



شکل ۶- ارزیابی دانه‌های گرده زنده، غیرزنده و تجزیه‌شده در سه رقم گوجه‌فرنگی LA3911 (حساس به تنش گرمایی) و LA2661، LA2662 (مقاوم به تنش گرمایی) در دمای بهینه ۱۸°C شب و تیمارهای تنش گرمایی ۲۸°C، ۳۲°C و ۳۶°C شب (دمای ثابت ۲۴°C روز) در شرایط رشدی تنظیم شده.

Figure 6. Evaluation of viable, non-viable and degraded pollen grains in three tomato cultivars LA3911 (sensitive to heat stress) and LA2661, LA2662 (resistant to heat stress) at the optimal temperature of 18°C at night and treatments Thermal stress 28°C, 32°C and 36°C at night (constant temperature 24°C during the day) under controlled growth conditions.



شکل ۷- اثر دماهای مختلف شب (اعمال دما به مدت ۱۰ ساعت) بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده ارقام LA2661، LA2662 و LA3911 در شرایط آزمایشگاهی. هر کدام از داده‌ها میانگین چهار عدد می‌باشد که توسط استاندارد بار نشان داده شده است.

Figure 7. The effect of different night temperatures (applying temperature for 10 hours) on the pollen grain germination percentage of LA2661, LA2662 and LA3911 under laboratory conditions. Each of the data is the average of four numbers shown by the standard bar.

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر رقم و دمای شب بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده.

Table 3. Analysis of variance for the effect of cultivar and night temperature on the percentage of pollen grain germination and pollen tube growth.

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of square	
		دانه‌گرده جوانه‌زده Germinated pollen	طول لوله‌گرده Pollen tube length
بلوک Block	3	7083 ^{n.s}	9132 ^{n.s}
دما Temperature	3	73211 ^{**}	19310 ^{**}
خطا ۱ Error 1	9	6519	1632
رقم Cultivar	2	8921 ^{**}	5321 ^{n.s}
دما × رقم Cultivar × Temperature	6	8743 ^{**}	13421 ^{n.s}
خطا ۲ Error 2	24	719	11202

ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال خطای یک درصد.

ns and ** indicate not significant and the significant differences at 1% error probability level, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر رقم و دمای شب بر درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده و رشد لوله‌گرده.

Table 4. Mean comparison of the effect of cultivar and night temperature on the percentage of pollen grain germination and pollen tube growth.

تیمار Treatment	طول لوله‌گرده (mm) Pollen tube length (mm)	دانه‌گرده جوانه‌زده (%) Germinated pollen grains (%)
رقم Cultivar		
LA2661	0.379 ^a	82.14 ^a
LA2662	0.312 ^a	88.7 ^a
LA3911	0.355 ^a	76.32 ^b
دما Temperature		
24 ^{°C}	0.811 ^a	88.9 ^a
28 ^{°C}	0.702 ^b	63.1 ^a
32 ^{°C}	0.447 ^c	57.3 ^b
36 ^{°C}	0.332 ^d	41.9 ^c

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means in each column with similar letters are not significantly different based on the LSD test at 5%

حساسیت بیشتری به دماهای بالا دارند که منجر به کاهش تولید گیاهان زراعی می‌شود. مطالعه تنش گرمایی در شرایط شبیه‌سازی شده آزمایشگاهی نشان می‌دهد که بیشترین آسیب دماهای بالا در مرحله تولید آغازه‌های گل و ۱۰ الی ۱۵ روز پس از آن است. نتایج آزمایش‌های این مطالعه نشان می‌دهد که قدرت باروری دانه‌های‌گرده در گوجه‌فرنگی در دماهای بالا برای یک دوره رشدی، کاهش می‌یابد. با افزایش دما، زنده‌مانی و جوانه‌زنی دانه‌گرده همچنین طول لوله‌گرده در محیط کشت مناسب رشد دانه‌های‌گرده، کاهش می‌یابد. کاهش زنده‌مانی دانه‌گرده می‌تواند به دلیل فقدان تشکیل یکپارچه دیواره بساک، کاهش غلظت قند و عدم تشکیل

۲۰ درصدی جوانه‌زنی دانه‌گرده مواجه شدند، در حالی که جیانگ و همکاران (۲۰۱۹)، با اعمال تنش گرمایی ۲۲^{°C} و ۲۶^{°C} شب بر روی دو رقم نخود زراعی حساس و مقاوم به تنش گرمایی، تفاوتی در درصد جوانه‌زنی دانه‌گرده در پاسخ به افزایش دمای شب مشاهده نکردند.

نتیجه‌گیری

در میان تمام تنش‌های غیرزنده که گیاهان در طبیعت با آن مواجه هستند، تنش گرمایی به‌طور مستقلاً بر فیزیولوژی و متابولیسم سلول‌های گیاهی اثر می‌گذارد. در همه گونه‌های زراعی مانند گوجه‌فرنگی به طور تقریبی، مراحل زایشی نسبت به مراحل رویشی،

گرده تجزیه‌شده در گوجه‌فرنگی اثرگذار بوده که با تغییرات ساختاری دیواره دانه‌گرده در ارتباط است. با توجه به سطح تقاضای تولیدات کشاورزی در آینده، به‌ارزایی مناسبی از میزان تحمل به‌تنش در گیاهان زراعی نیازمندیم و برنامه‌ریزی در این حوزه محسوس می‌باشد. توسعه ارقام متحمل به‌تنش گرمایی عامل مهمی در تولیدات زراعی مطمئن و موفق در دوره تغییرات اقلیمی می‌باشد.

و یا تشکیل ناهمگون لایه تاپتوم باشد. همچنین، جوانه‌زنی دانه‌گرده با افزایش دما و کاهش شدید محتوی کربوهیدراتی در قسمت تاپتوم دانه‌گرده، کاهش می‌یابد. جوانه‌زنی دانه‌گرده با افزایش دما به‌بیش از 24°C و با اثر بر رشد لوله‌گرده، کاهش می‌یابد. در محدوده دمای شب از 18°C ، 24°C ، 32°C و 36°C ، بیشترین جوانه‌زنی دانه‌گرده در دمای 18°C شب می‌باشد و این افزایش دمای شب بیشتر از افزایش دمای روز بر ایجاد دانه‌های

منابع

- Begcy, K. and Dresselhaus, T. 2018. Epigenetic responses to abiotic stresses during reproductive development in cereals. *Plant Reproduction*, 31: 343-355. <https://doi.org/10.1007/s00497-018-0343-4>
- Bhattacharai, S., Harvey, J.T., Djidonou, D. and Leskovar, D.I. 2021. Exploring morpho-physiological variation for heat stress tolerance in tomato. *Plants*, 10: 347. <https://doi.org/10.3390/plants10020347>
- Bueckert, R.A., Wagenhoffer, G., Hnatowich, C., and Warkentin, T.D. 2015. Effect of heat and precipitation on pea yield and reproductive performance in the field. *Canadian Journal of Plant Science*, 95: 629-639. <https://doi.org/10.4141/cjps-2014-342>
- Camejo, D., Rodriguez, P., Morales, M.A., Dell'Amico, J.M., Torrecillas, A. and Alarcon, J.J. 2005. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. *Journal of Plant Physiology*, 162: 281-289. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.07.014>
- Cross, R.H., McKay, S.A.B., Mchughen, A.G. and P.C. Bonham-Smith. 2003. Heat-stress effects on reproduction and seed set in *Linum usitatissimum* L. (flax). *Journal of Plant Cell and Environment*, 26: 1013-1020. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01006.x>
- Devasirvatham, V., Gaur, P.M., Mallikarjuna, N., Tokachichu, R.N., Trethowan, R.M. and Tan, D.K.Y. 2012. Effect of high temperature on the reproductive development of chickpea genotypes under controlled environments. *Functional of Plant Biology*, 39(12): 1009-1018. <https://doi.org/10.1071/FP12033>
- Din, J.U., Khan, S.U., Khan, A., Qayyum, A., Abbasi, K.S. and Jenks, M.A. 2015. Evaluation of potential morpho-physiological and biochemical indicators in selecting heat-tolerant tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) genotypes. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 56(6): 769-776. <https://doi.org/10.1007/s13580-015-0098-x>
- Ding, X.L., Wang, X., Li, Q., Yu, L.F., Song, Q.J., Gai, J.Y. and Yang, S.P. 2019. Metabolomics studies on cytoplasmic male sterility during flower bud development in soybean. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 28-69. <https://doi.org/10.3390/ijms20122869>
- Djanaguiraman, M., Prasad, P.V.V., Boyle, D.L., and Schapaugh, W.T. 2013. Soybean pollen anatomy, viability and pod set under high temperature stress. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*, 199: 171-177. <https://doi.org/10.1111/jac.12005>
- Driedonks, N., Rieu, I. and Vriezen, W.H. 2016. Breeding for plant heat tolerance at vegetative and reproductive stages. *Plant Reproduction*, 29: 67-79. <https://doi.org/10.1007/s00497-016-0275-9>

- Erickson, A.N., and Markhart, A.H. 2002. Flower developmental stage and organ sensitivity of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) to elevated temperature. *Journal of Plant Cell and Environment*, 25: 123-130. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00807.x>
- Hafidh, S., Potesil, D., Muller, K., Michailidis, C., Herrmannova, A., Fecikova, J., Ischebeck, T., Valasek, L.S. and Zdrahal, Z. 2018. Dynamics of the pollen sequestrome defined by subcellular coupled omics. *Journal of Plant Physiology*, 178: 258-282. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00648>
- Jagadish, K.S.V., Craufurd, P., Shi, W. and Oane, R. 2014. A phenotypic marker for quantifying heat stress impact during microsporogenesis in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Functional Plant Biology*, 41: 48-55. <https://doi.org/10.1071/FP13086>
- Jiang, Y., Lahlali, R., Karunakaran, C., Warkentin, T.D., Davis, AR. and Bueckert, RA. 2019. Pollen, ovules, and pollination in pea: success, failure, and resilience in heat. *Journal of Plant, Cell and Environment*, 42: 354-372. <https://doi.org/10.1111/pce.13427>
- Jiang, Y., Lahlali, R., Karunakaran, C., Warkentin, T.D., Davis, AR. and Bueckert, RA. 2015. Seed set, pollen morphology and pollen surface composition response to heat stress in field pea. *Journal of Plant Cell and Environment*, 38: 2387-2397. <https://doi.org/10.1111/pce.12589>
- Lahlali, R., Jiang, Y., Kumar, S., Karunakaran, C., Liu, X., Borondics, F., Hallin, E. and Bueckert R. 2014. ATR-FTIR spectroscopy reveals involvement of lipids and proteins of intact pea pollen grains to heat stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 5: 747-762. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00747>
- Morrison, M.J., Gutknecht, A., Chan, J. and Miller, S.S. 2016. Characterising canola pollen germination across a temperature gradient. *Crop Pasture Science*, 67: 317-322. <https://doi.org/10.1071/CP15230>
- Rajametov, S.N., Yang, E.Y., Jeong, H.B., Cho, M.C., Chae, S.Y. and Paudel, N. 2021. Heat treatment in two tomato cultivars: A study of the effect on physiological and growth recovery. *Horticulturae*, 7(5): 119-128. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7050119>
- Shivanna, K.R. 2003. *Pollen Biology and Biotechnology* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429187704>
- Singh, V., Nguyen, C.T., Yang, Z., Chapman, S.C., Oosterom, E.J. and Hammer, G.L. 2016. Genotypic differences in effects of short episodes of high-temperature stress during reproductive development in sorghum. *Crop Science*, 56(4): 1561-1572. <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.09.0545>
- Sita, K., Sehgal, A., Hanumantha, B., Nair, R.M., Prasad, V., Kumar, S., Gaur, P.M., Farooq, M., Siddique, K.H.M., Varshney, R.K. and Nayyar, H. 2017. Food legumes and rising temperature: Effects, adaptive functional mechanisms specific to reproductive growth stage and strategies to improve heat tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 8: 165-172. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01658>
- Song, G., Wang, M., Zeng, B., Zhang, J., Jiang, C., Hu, Q., Geng, G. and Tang, C. 2015. Anther response to high-temperature stress during development and pollen thermotolerance heterosis as revealed by pollen tube growth and in vitro pollen vigor analysis in upland cotton. *Planta*, 241: 1271-1285. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2259-7>
- Sun, M., Jiang, F., Zhang, C., Shen, M. and Wu, Z. 2016. A new comprehensive evaluation system for thermo-tolerance in tomato at different growth stage. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, 6: 152-168. <https://doi.org/10.17265/2161-6264/2016.03.002>
- Xu, J., Wolters-Arts, M., Mariani, C., Huber, H. and Rieu, I. 2017. Heat stress affects vegetative and reproductive performance and trait correlations in tomato (*Solanum lycopersicum*). *Euphytica*, 8: 213-156. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1949-6>

-
- Zandalinas, S.I., Fritschi, F.B. and Mittler, R. 2021. Global warming, climate change, and environmental pollution: Recipe for a multifactorial stress combination disaster. *Journal of Trends in Plant Science*, 26: 588-599. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.02.011>
- Zheng, E.h., De Su, S., Xiao, H. and Tian, H., 2019. Calcium: A critical factor in pollen germination and tube elongation. *International Journal of Molecular Science*, 20(2): 420-431. <https://doi.org/10.3390/ijms20020420>
- Zhou, R., Kjaer, K., Rosenqvist, E., Yu, X., Wu, Z., and Ottosen, C.O. 2017. Physiological response to heat stress during seedling and anthesis stage in tomato genotypes differing in heat tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203: 68-80. <https://doi.org/10.1111/jac.12166>