مطالعه مراحل تکوین بساک و دانه گرده گیاه سیر

احمدرضا عباسی‌فر*[۱]، فرشاد دشتی [۲]، عبدالکریم چهرگانی‌راد [۳]

[۱]* استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک

[۲] دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

[۳] استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه بوعلی سینا همدان

*نویسنده مسئول: Abbasifar1965@yahoo.com

چکیده

تکثیر گیاه سیر به دلیل عقیم بودن و عدم تشکیل گل و بذر، از طریق سیرچه‌ها انجام می‌شود. بنابراین، درک فرآیندهای گامتوجنسیس، می‌تواند به تولید بذر واقعی، هیبریداسیون و اصلاح سنتی در سیر کمک نماید. میکروگامتوژنز در نهاندانگان زیادی مطالعه شده است، اما در گیاه سیر بندرت و در سیرهای ایرانی تاکنون گزارش نشده است. بنابراین، اطلاعات بسیار کمی در زمینه میکروگامتوژنز در این محصول مهم وجود دارد. از بین ۴۰ هم‌گروه آزمایش مقدماتی، سه هم‌گروه فریدونکنار، چینی زابل و آستانه‌اشرفیه که شرایط لازم برای تشکیل گل را داشتند، برای انجام این آزمایش انتخاب گردیدند. برای بررسی مراحل تکوین بساک و دانه گرده از مراحل مختلف تشکیل گل‌آذین، جوانه گل تا تشکیل بذر سه هم‌گروه منتخب، نمونه‌گیری به‌عمل آمد. پس از تثبیت و نگهداری نمونه‌ها در فیکساتور، مراحل آماده سازی آن‌ها جهت مطالعات میکروسکوپی شامل، شستشو، آب‌گیری، شفاف‌سازی، نفوذ دادن پارافین، قالب گیری، برش‌گیری، رنگ‌آمیزی و چسباندن بر روی لام انجام گردید. نتایج نشان داد که فقط تعداد معدودی از بساک‌ها و دانه‌های گرده در هم‌گروه‌های سیر ایرانی می‌توانند مراحل تکوین را طی نموده و منجر به تولید دانه‌های گرده زنده بشوند.

***کلمات کلیدی:* بساک، تکوین، سیر، گامتوجنسیس، میکروگامتوژنز**

مقدمه

دلایل عقیمی سیر رقابت برای مواد غذایی بین جوانه‌های رویشی و گل در گل‌آذین در حال نمو (Koul and Gohil, 1970)، تخریب تاپتوم (Novak, 1972)، بیماری‌های شبه تخریب‌کننده یا فاسدکننده‌ای که توسط میکوپلاسما و یا ویروس‌ها القاء می‌شود (Konvicka, 1973)، حذف‌های کروموزومی (Etoh, 1985) و ناهنجاری در نمو کیسه رویان (Etoh, 1985) ذکر شده است. شمش و همکاران (۲۰۱۲) نرعقیمی در سیر را متاثر از عوامل مختلفی مانند شرایط محیطی، تغذیه، بیماری‌ها و جهش‌ها دانسته و عنوان داشتند. بیان فنوتیپی نرعقیمی متفاوت بوده و از عدم وجود کامل اندام‌های نر، ناتوانی برای توسعه بافت‌های اسپورزا (نبود میوز)، سقط گرده در طول نمو آن، تا عدم باز شدن بساک‌ها یا ناتوانی گرده بالغ برای جوانه‌زنی روی کلاله سازگار را در بر می‌گیرد.

اگرچه باروری در تعدادی از ژنوتیپ‌های سیر که عمدتاً بومی آسیای مرکزی هستند، گزارش شده است (Etoh et al.,1988; Pooler and Simon,1993 and1994; Jenderek and Hanna, 2000; Kamenetsky et al., 2005)، ولی ارقام تجاری سیر همگی عقیم بوده و اطلاعات بسیار اندکی در زمینه میکروگامتوژنز در این محصول مهم وجود دارد. مشاهده‌های شمش و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که ژنوتیپ‌های گلده سیر از نظر باروری و توانایی تولید گرده زنده متفاوت هستند که احتمالاً به خاطر وجود ناهنجاری‌ها در اندام‌زایی گل می‌باشد.

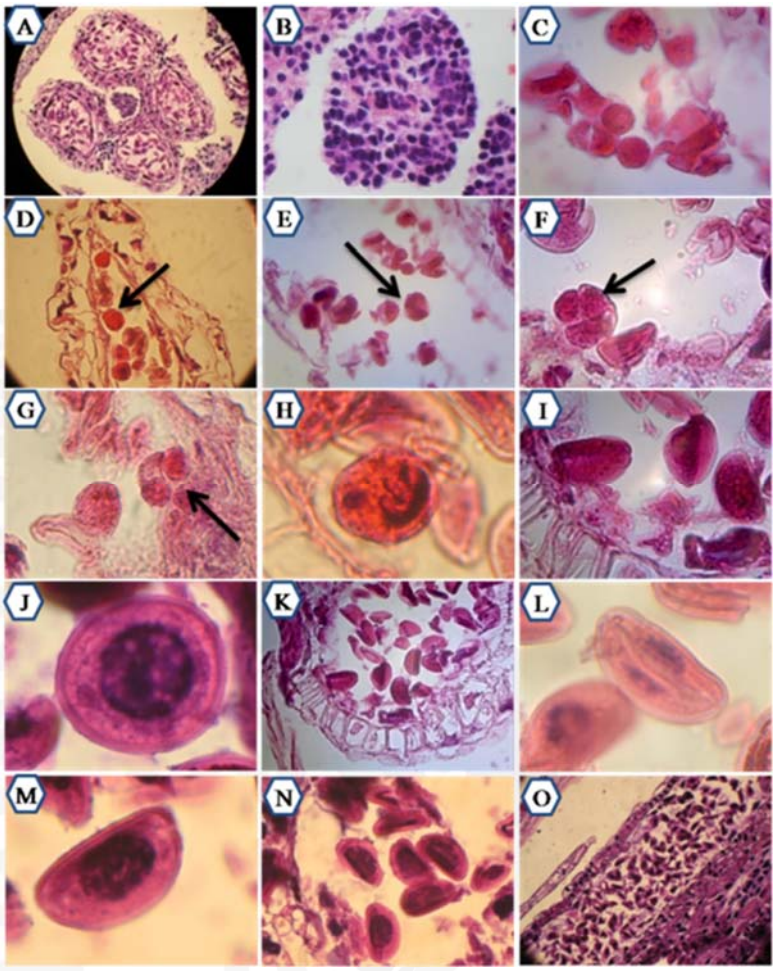
هدف از این پژوهش، بررسی مراحل تکوین بساک و دانه‌گرده در سه هم‌گروه سیر منتخب از آزمایش مقدماتی این پژوهش بود. این گزارش اولین مطالعه در خصوص میکروگامتوژنز در هم‌گروه‌های سیر ایرانی است و برای اولین بار فرآیندهای زایشی سیرهای کشور ایران در این تحقیق مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

از بین ۴۰ هم‌گروه سیر استفاده شده در آزمایش‌های مقدماتی، سه هم‌گروه سیر فریدونکنار، چینی زابل و آستانه اشرفیه که شرایط بهتری را برای تشکیل گل، گل‌آذین، بساک و دانه‌گرده داشتند، برای انجام این آزمایش انتخاب شدند. برای بررسی مراحل تکوین بساک و دانه گرده در مراحل میکروسپورزایی از مراحل مختلف تشکیل گل‌آذین، جوانه گل تا تشکیل بذر در هر سه هم‌گروه منتخب، نمونه‌های لازم تهیه گردید. برای آماده‌سازی نمونه‌ها جهت مطالعات میکروسکوپی مراحل متعددی روی آن‌ها شامل تثبیت، شستشو، آب‌گیری، شفاف‌سازی، نفوذ دادن پارافین، قالب‌گیری، برش‌گیری، رنگ‌آمیزی و چسباندن بر روی لام انجام گرفت (Chehregani Rad et al.,2008; Chehregani Rad and Sedaghat 2009; Mohsenzadeh et al.,. 2012 and Chehregani Rad et al., 2014). در نهایت، مراحل تکوین بساک و دانه‌های گرده در هم‌گروه‌های مورد نظر مشخص و با ماژیک مخصوص CD بر روی لام علامت‌گذاری شد. از مراحل مختلف نمونه‌های تکوین بساک و دانه‌های گرده به کمک فتومیکروسکوپ (ZEISS مدل Axiostar Plus) مجهز به دوربین کانن G_{11} و همچنین به کمک میکروسکوپ دوربین‌دار (مدل LX500 LABOMED) و در بزرگنمائی‌های مختلف، عکس‌برداری انجام گردید.

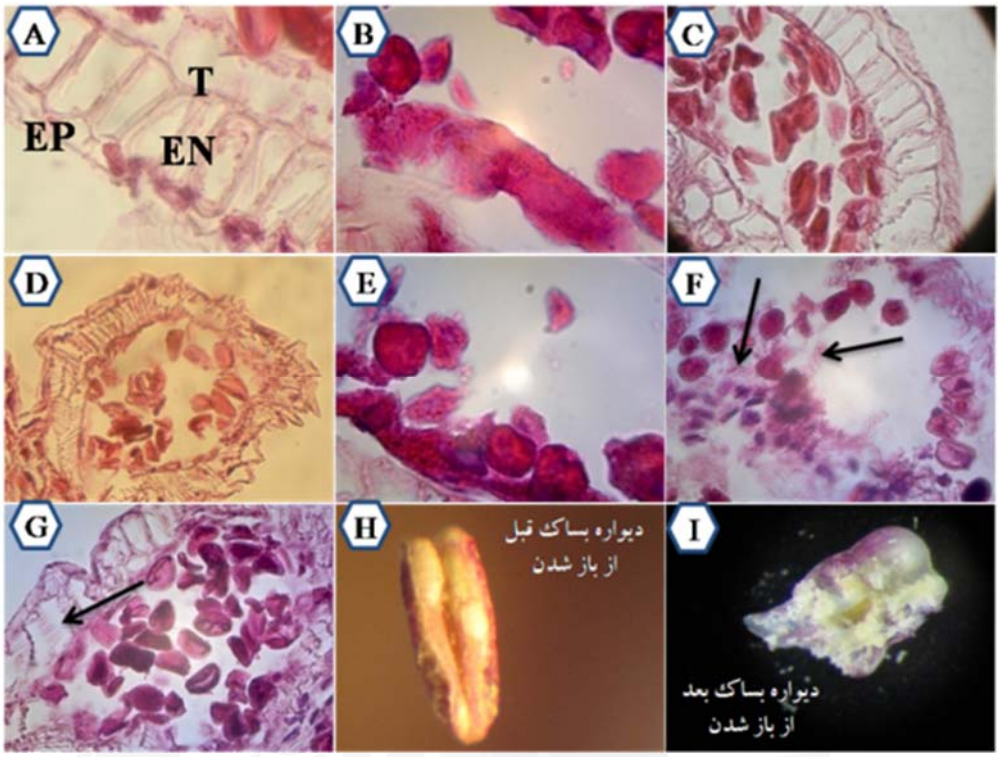
نتایج و بحث

نمو گرده از اوایل میکروسپورزایی تا بلوغ و رها شدن در جوانه‌های گل و گل‌های سه هم‌گروه فوق مطالعه شد. بر اساس مطالعات میکروسکوپی، هر پرچم دارای بساکی متشکل از دو خانه در دو طرف بخش رابط بوده که هر یک به نوبه خود از دو کیسه گرده تشکیل شده‌اند (شکل۱، A). سلول‌های مادر میکروسپور ابتدا دستخوش تمایز شده (شکل۱، B و C) و سپس به ترتیب در انتهای اولین و دومین تقسیم میوز، دیادها (شکل۱، D و E) و تترادها (شکل۱، F و G) را تشکیل دادند. موقعی که دیواره کالوز تترادها تجزیه می‌شود، میکروسپورهای آزاد به داخل حجره بساک رها شده (شکل۱، H، I، J و K) و دستخوش تقسیم میتوز شده و به بلوغ می‌رسند. هر دانه گرده بالغ یک سلول رویشی و یک سلول زایشی دارد (شکل۱، L-N). برش طولی بساک و نمای از برش طولی یک حجره در شکل۱، O دیده می‌شود.



شکل۱- مراحل تکوین بساک و دانه گرده. A: برش عرضی بساک و نمای از چهار حجره و گرده‌های موجود در آن. B و C: تمایز سلول‌های مادر میکروسپور (MMC). D و E: تشکیل دیاد. F و G: تشکیل تتراد. H: گرده جوان یا میکروسپور در حال تقسیم کروموزومی. I: میکروسپور نزدیک به مرحله بلوغ، لایه تاپی در حال از بین رفتن است. J: میکروسپور در حال بلوغ از نمای قطبی. K: دانه‌های گرده در حالت میکروسپور و قبل از بلوغ کامل، لایه تاپی در حال از بین رفتن است. L-N: دانه‌های گرده بالغ محتوی سلول رویشی و سلول زایشی. O: برش طولی بساک و نمای از یک حجره آن.

مطالعات تشریحی نشان داد که دیواره بساک‌های توده‌های سیر مورد بررسی، دارای لایه‌های مشخص اپیدرمی، مکانیکی و تاپی هستند (شکل۲، A). سلول‌های لایه تاپی و اسپورزا دارای یک سیتوپلاسم فشرده بوده و حجمشان به‌سرعت طی میکروسپورزایی افزایش می‌یابد (شکل۲، B). سلول‌های لایه تاپی مواد غذایی را برای دانه گرده در حال نمو فراهم می‌کنند. این سلول‌ها دارای واکوئل‌های بزرگ بوده و دیواره داخلی‌شان به آرامی به‌طرف فضای خالی سلول، بزرگ می‌شود. اتصال محکم بین سلول‌ها در لایه تاپی، نزدیک اتمام تقسیم دوم میوز سلول مادر میکروسپور، سست شده و به دنبال آن جدا و آزاد شدن میکروسپورها و تخریب تدریجی لایه تاپی اتفاق می‌افتد (شکل۲، C و D). لایه تاپی که در این هم‌گروه‌ها مشاهده گردید از نوع تهاجمی یا پلاسمودیال تشخیص داده شد (شکل۲، E و F). سلول‌های لایه مکانیکی درست قبل از رها شدن گرده‌ها، تکامل یافته و گسترش پیدا کردند (شکل۲، G)، در نهایت، دیواره بساک باز شده و دانه‌های گرده بالغ رها شدند (شکل۲، H و I).



شکل۲- ادامه مراحل تکوین بساک و دانه گرده. A: لایه‌های اپیدرمی، مکانیکی، میانی و تاپی. B: سیتوپلاسم فشرده سلول‌های تاپی و اسپورزا و افزایش حجم آن‌ها در طی میکروسپورزایی. C و D: آزاد شدن میکروسپورها و تخریب تدریجی تاپتوم. E و F: لایه تاپی از نوع تهاجمی یا پلاسمودیال. G: گسترش سلول‌های لایه مکانیکی قبل از رها شدن گرده‌ها. H: بساک قبل از باز شدن دیواره. I: بساک بعد از باز شدن دیواره.

مطالعه مراحل مختلف تکوین بساک و دانه گرده در هم‌گروه‌های سیر مورد مطالعه نشان داد که وجود انواع نرعقیمی، توقف نمو کامل دانه‌های گرده، تشکیل اجسام شبه رویان در درون بساک، به هم چسبیدن دانه‌های گرده، اختلال در مراحل مختلف میوز، وجود دانه‌های گرده غیر طبیعی، ناهمگنی در شکل، اندازه و مراحل نمو دانه‌های گرده، باز نشدن دیواره بساک در هنگام رسیدن دانه‌های گرده، نمو کیسه رویانی در دانه گرده (پدیده نمک)، تبدیل و تغییر شکل لایه تاپی ترشحی به لایه تاپی پلاسمودیمی (تهاجمی) و عدم سازمان‌یابی و تمایز بساک از عواملی هستند که در سیرهای ایرانی مانع از تشکیل بذر می‌شوند. بنابراین، فقط تعداد معدودی از بساک‌ها و دانه‌های گرده در هم‌گروه‌های سیر ایرانی می‌توانند مراحل طبیعی تکوین را طی نموده و منجر به تولید دانه‌های گرده سالم بشوند.

منابع

Chehregani Rad, A., Mohsenzadeh, F. Ekhtari, S. and TajikEsmaili S. 2014 "Ovule and megagametophyte development in Adonis flammea Jacqu: Report of ovule and embryo abortion". Journal of Cell and Tissue 4: 397-405

Chehregani, A. and Sedaghat, M. 2009 "Pollen Grain and Ovule Development in Lepidium vesicarium L. (Brassicaceae)". International Journal of Agriculture and Biological Science 11(5): 601-605

Chehregani, A. Tanaomi, N. and Ranjbar, M. 2008 "Pollen and anther development in Onobrychis schahuensis Bornm. (Fabaceae)". International Journal of Botany 4(2): 241-244.

Etoh, T. 1985 "Studies on the sterility in garlic, Allium sativum L". Memoirs of the Faculty of Agriculture of Kagoshima University 21:77-132.

1 Nemec

Etoh, T. Noma, Y. Nishitarumizu, Y. and Wakomoto, T. 1988 "Seed productivity and germin ability of various garlic clones collected in Soviet Central Asia". Memoirs of the Faculty of Agriculture of Kagoshima University 24:29–139.

Jenderek, M.M and Hanna, R.M. 2000 "Seed producing ability of garlic (Allium sativum L.) clones from two public U.S. collections". Proceedings of the Third International Symposium on Edible Alliaceae, Athens, Georgia, USA. 73–75.

Kamenetsky, R. Shafir, I.L. Khassanov, F. Kik, C. Van Heusden, A.W. Ginkel, M.V. Burger-Meijer, K. Auger, J. Arnault, I. and Rabinowitch, H.D. 2005 "Diversity in fertility potential and organosulphur compounds among garlics from central Asia". Biodiversity and Conservation 14:281–295.

Konvicka, O. 1973 "The causes of sterility in Allium sativum L". Biology of Plants. 15 (2): 144–149.

Koul, A.K. and Gohil, R.N. 1970 "Causes averting sexual reproduction in Allium sativum Linn". Cytologia 35:197-202.

Mohsenzadeh, F. Chehregani Rad, A. and Ekhtari S. 2012 "Study on Developmental Stage of Gynoecium and Megagametophyte in Rannunculus arvenisis L". Journal of Cell and Tissue 3(3): 201-210.

Novak, F.J. 1972 "Tapetal development in the anthesis of Allium sativum L. and Allium longicuspis Regel". Experientia 28: 1380–1381.

Pooler, M. R and P. W, Simon. 1994 "True seed production in garlic". Sexual Plant Reproduction 7: 282–286.

Pooler, M. R. and Simon, P. W. 1993 "Garlic flowering in response to clone, photoperiod, growth temperature, and cold storage". HortScience, 28: 1085–1086.

Shemesh, E. Winiarczyk, K. Błaszczyk, L. Kosmala, A. Rabinowitch, H. D. and Kamenetsky, R. 2012 "Male gametogenesis and sterility in garlic (Allium sativum L.) barriers on the way to fertilization and seed production". Planta. DOI 10.1007/s00425-012-1748-1.

Study the Evolution Stages of Garlic Anther and Pollen Grain

Ahamad reza Abbasifar[1]*, Farshad Dashti[2], Abdoulkarim Chehregani Rad[3]

[1]*Assistant Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Arak

[2]*Associate Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, University of Buali Sina Hamedan

[3]*Professor, Department of Biology, College of Sciences, University of Buali Sina Hamedan

Corresponding Author: Abbasifar1965@yahoo.com

Abstract

Garlic propagation due to infertility and lack of flowering and seed development, was happen by cloves. Therefore, understanding the process of gametogenesis could help to true seed production, hybridization and the traditional breeding of garlic. Microgametogenesis been studied in many angiosperms, but there is a few reports about microgametogenesis in garlic and this is the first report in Iranian garlics.Therefore, there is very little information about microgametogenesis in this important crop. Among 40 clones of preliminary experiment, three clones, Fereydunkenar, Chiniyeh Zabul and Astaneh Ashrafieh, that had the necessary conditions for the formation of flower, were selected for this experiment. To examine the evolution stages of anthers and pollen, from different stages of the formation of inflorescence, flower buds to seed formation of three selected clones, samples were taken. After fixing and maintenance of samples in the fixator, preparing stages of them for microscopic studies containing washing, dehydration, clearing, waxation, embedding, sectioning, staining and mounting was performed. The results showed that only a little number of anthers and pollen grains of Iranian garlic clones can be over stages of evolution and resulted to viable pollen grains.

Keywords: **anther, evolution, garlic, gametogenesis, microgametogenesis**