Archive of SID

مطالعه میکروسکوپی اندام‌زایی در زردآلوی رقم شصتمی یک*

جعفر حاجی‌لو[1]، وازگین گریگوریان[2]، علی ناظمیه[2] و مصطفی ولیزاده[3]

چکیده

به منظور بررسی فرآیند تشکیل گل در زردآلو، طی مطالعات میکروسکوپی زمان گل آغازی و مراحل تکامل مرفولوژیک جوانهٔ گل در شرایط اقلیمی ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور از اواسط مرداد سال ۱۳۷۶ از جوانه‌های اسپورهای زردآلوی رقم شصتمی یک به فاصله هر ده روز یکبار نمونه‌برداری شد. پس از حذف فلس‌های جوانه بااستفاده از بینوکولار، جوانه‌ها در محلول F.A.A تثبیت شدند. در مراحل بعدی پس از آبشویی، نفوذ دادن پارافین و قالب‌گیری، برش‌های میکروسکوپی از نمونه‌ها تهیه شد. برشها پس از رنگ‌آمیزی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج حاصل از مشاهدات میکروسکوپی نشان داد که آغاز فعالیت اندام‌زایی، یعنی تخت شدن مریستم در فاصله زمانی اواسط تااواخر مرداد، تشکیل کاسبرگ‌های جنینی از اواخر مرداد تا اوایل شهریور، تشکیل گلبرگ‌های جنینی از اوایل تا اواسط شهریور وتشکیل پرچم‌های جنینی در فاصله زمانی اواسط تا اواخر شهریور بوقوع پیوست. همزمان با تکامل اعضای گل، تکامل مادگی آغاز و در مدت چند هفته خاتمه یافت. به گونه‌ای که در اواسط آبان ماه کلیه اعضای گل به صورت جنینی تشکیل گردیدند.

واژه‌های کلیدی : اندام‌زایی، زردآلو، گل آغازی.

مقدمه

بطور کلی گلدهی فرآیندی است بسیار پیچیده که برای تحقق آن وجود شرایط خاص درون گیاهی و محیطی مناسب ضروری است به همین خاطر بایستی گیاه در یک مسیر نموی صحیح قرار گیرد. برخی محققین عقیده دارند که وجود مقادیر کافی از مواد فتوسنتزی در گیاه مهمترین عاملی است که برانگیخته شدن جوانهٔ گل را تحت تأثیر قرار می‌دهد. لذا، بازدارندگی تشکیل گل بوسیله میوه‌ها و یا قطب‌هایی که مستعد فعالیت‌های متابولیکی می‌باشند ناشی از مصرف زیاد متابولیت‌ها می‌باشد. برخی دیگر از محققین در زیتون همانند گونه‌های دیگر نشان دادند که اسیدهای آمینه، مخصوصاً گلوتامین وآسپاراژین، در القاء گل کاملاً مؤثر می‌باشند (۱۳). بر اساس نظریه عده‌ای از محققین گل‌انگیزی در نتیجهٔ تعادل هورمونی و بنا به نظریه عده دیگر براساس تغییرات توزیع مواد غذایی در داخل مریستم انتهایی به وقوع می‌پیوندد. بدون توجه به مکانیسم عمل، پس از دریافت تحریکات خاص توسط جوانه، تشکیل گل در مریستم طرح‌ریزی می‌شود(۷). گمان می‌رود گل‌انگیزی زمینهٔ لازم جهت انتقال از مرحله رویشی به زایشی را فراهم می‌سازد. در درختان میوه این پدیده ممکن است زمانی اتفاق بیافتد که مقدار جیبرلین از سطوح بازدارندگی بحرانی[4] پایین‌تر باشد و نیز در بین سایر هورمون‌ها از جمله اکسین، سایتوکینین واتیلن تعادلی مطلوب جهت گل آغازی وجود داشته باشد(۱۰).

رازیرا ومور (۱۴) واژه گل‌آغازی[5] را به نخستین تغییرات قابل مشاهده مرفولوژیک در آپکس که دلالت بر آغاز تکامل گل دارد بکار بردند. برخی محققین تخت

*- تاریخ دریافت ۷۹/۲/۲۰ تاریخ پذیرش ۸۰/۵/۶

۱- دانشجوی دوره دکتری باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۲- گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز
۳- گروه زراعت‌واصلاح‌نباتات دانشکده‌کشاورزی‌دانشگاه تبریز

4- Critical inhibitory levels
5- Initiation

www.SID.ir

Archive of SID

مسطح شدن[1] آپکس را نخستین علامت تشکیل گل به صورت جنینی می‌دانند (۱۴،۵و۱۵). برخی دیگر عقیده دارند که حجیم شدن نقطه رشد بعنوان آغاز تمایز گل محسوب شده ویا نوعی تورم دربافت مریستمی حاکی از مراحل اولیه نمو گل می‌باشد(۱۴). زمان گل آغازی در گونه‌ها ونیز در ارقام مختلف متعلق به یک گونه متفاوت است (۱و۱۲). شرایط آب و هوایی، سن درخت، پایه و رقم زمان تمایز جوانه‌های گل راتحت تأثیر قرار می‌دهند. این فرآیند بدون شک تحت تأثیر اعمال مدیریت‌هایی چون هرس و آبیاری قرار می‌گیرد (۱۴).

پس از تغییر شکل وضعیت گنبدی شکل مریستم به وضعیت مسطح، مراحل اندام زایی باگذشت زمان به طور متوالی به وقوع می‌پیوندد. به همین صورت شکل‌گیری کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها و پرچم‌های جنینی و نیز ظهور مادگی به ترتیب اتفاق می‌افتند(۲،۴،۶و۸). کل فرآیند تمایز جوانهٔ گل برحسب گونه ممکن است از ۵۴ تا ۱۱۲ روز متغیر باشد. با وجود اینکه در گذشته به گل آغازی و مراحل اولیه مورفوژنز (ریخت‌زایی) جوانه‌های گل اهمیت زیادی داده می‌شد، بااین حال مراحل پایانی تکامل جوانه گل در هسته‌دارها نسبت به دانه‌دارها از اهمیت بیشتری برخوردار است (۷). باتوجه به این که مراحل تمایز و تکامل جوانه‌های گل یکی از بحرانی‌ترین مراحل چرخهٔ زندگی سالیانه درختان میوه بوده و مراقبتهای ویژه‌ای را می‌طلبد، در همین راستا این آزمایش به منظور مشخص نمودن زمان آغازش گل بصورت جنینی وتعیین فاصله زمانی بین تخت شدن مریستم تا شکل‌گیری کامل اعضای گل به صورت جنینی تحت شرایط آب و هوایی ایستگاه باغبانی سهند انجام شد.

مواد وروشها

مراحل مختلف تهیه برشهای میکروسکوپی از نمونه‌ها به صورت زیر انجام گرفت:

الف) نمونه‌گیری وتثبیت نمونه‌ها[2]: از اواسط تابستان ۱۳۷۶ نمونه برداری برمبنای جوانه‌های موجود بر روی اسپوزهای زردآلوی رقم شصتمی یک در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند واقع در کیلومتر ۳۵ جاده تبریز - آذرشهر هر ده روز یکبار بطور مرتب صورت گرفت. در هر نمونه برداری تعداد ۵۰ تا ۶۰ عدد جوانه برداشت و در داخل کیسه‌های پلاستیکی سربسته به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در آزمایشگاه ابتدا از هر نمونه چند جوانه با استفاده از بینوکولار مورد بررسی قرار گرفته و حدود اندام زایی در آنها بررسی و یادداشت گردیدند. پس از حذف بیشتر فلسها در زیر بینوکولار، جوانه‌ها در فیکساتور F.A.A[3] (ترکیبی از ۶ قسمت الکل اتیلیک مطلق، ۳قسمت فرمالین ۳۷٪ ویک قست اسید استیک گلاسیال) تثبیت شدند(۳).

ب) شستشو[4]، آبگیری[5] و شفاف کردن[6] نمونه‌ها: به منظور خارج کردن ماده فیکساتور از بافتها، نمونه‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس، با استفاده از الکل اتیلیک با درجات ۵۰٪، ۷۰٪، ۹۰٪، ۹۶٪ والکل مطلق ۱و۲ آبگیری بافتها انجام شد و در نهایت از تولوئن برای شفاف کردن بافتها استفاده گردید. برای این منظور، ابتدا نمونه‌ها به مدت یک روز در مخلوط تولوئن + الکل مطلق با حجم یکسان قرار داده شدند و سپس در ظروف حاوی تولوئن خالص ۱و۲ در هر کدام به مدت یک روز نگهداری شدند(۳و۱۱).

ج) نفوذ دادن پارافین[7] و قالب‌گیری[8] نمونه‌ها: برای خارج کردن تولوئن از بافت‌ها ونفوذ دادن پارافین به داخل آنها ابتدا جوانه‌ها به مدت یک روز در مخلوط پارافین + تولوئن با حجم یکسان در داخل انکوباتور در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس جوانه‌ها به مدت ۵ روز در پارفین‌های ۱،۲،۳،۴و۵ نگهداری شدند تا پارافین کاملاً به بافتها نفوذ نمایند. پس از طی این مراحل، در نهایت

1- Flattening
2- Fixation
3- Formalin Acetic Acid Alcohol
4- Washing
5- Dehydration
6- Clearing
7- Parrafin infiltration
8- Embeding

www.SID.ir

Archive of SID

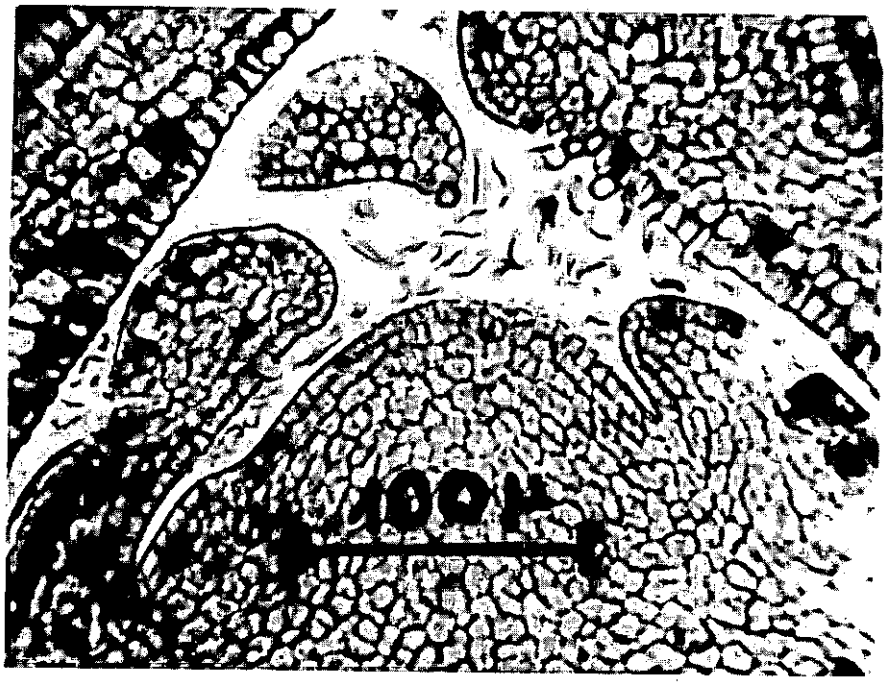
عمل قالب‌گیری صورت گرفت.

د) تهیه برشهای میکروسکوپی: برشهای میکروسکوپی با استفاده از دستگاه میکروتوم به ضخامت ۱۵ میکرون تهیه شدند. پس از انتخاب برشهای مناسب با استفاده از بینوکولار، پهن کردن وچسباندن برشها بر روی لام صورت گرفت. در نهایت، پس از خشک کردن، رنگ‌آمیزی صورت گرفت. برای این کار پس از خارج کردن پارافین از بافتها توسط تولوئن وهم چنین آب دادن به بافتها توسط محلولهای الکلی با درجات نزولی، رنگ‌آمیزی برشها توسط کارمن زاجی و وردمتیل به نسبت ۴به ۱ صورت گرفت. پس از رنگ‌آمیزی، آبگیری مجدد برشها توسط محلولهای الکلی با درجات صعودی صورت گرفت و نهایتاً پس از شفاف کردن نمونه‌ها توسط محلول تولوئن وآماده کردن آنها، عکسبرداری از آنها توسط میکروسکوپ زایس (فتومیکروسکوپ III) صورت گرفت (۳).

نتایج و بحث

با توجه به اینکه نخستین علائم تمایز گل، بطور مشخص، ضخیم شدن آپکس می‌باشد (۱۴و۱۵)، لذا در برش‌های میکروسکوپی تخت شدن مریستم بعنوان اولین علائم تمایز مرفولوژیک جوانه گل مورد توجه قرار گرفت. شکل ۱ نشان می‌دهد که در اولین تاریخ نمونه برداری (۱۵ مردادماه) مریستم هنوز وضعیت گنبدی شکل دارد.

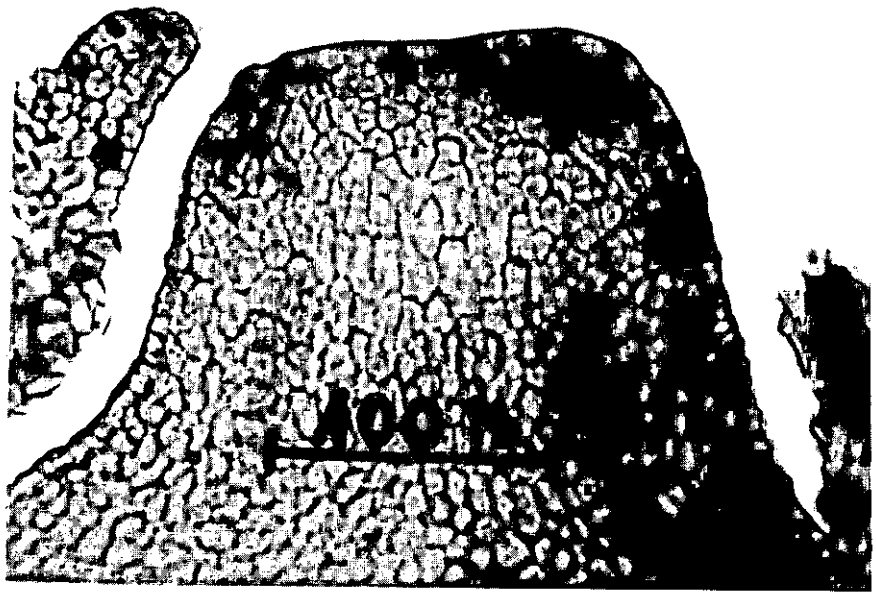
برشهای تهیه شده از نمونه برداری درتاریخ ۲۵ مرداد ماه نشان دادند که اولین علائم تمایز مرفولوژیک جوانه گل یعنی تخت شدن مریستم در فاصله زمانی ۱۵تا ۲۵ مرداد اتفاق افتاد و بدین ترتیب نهنج گل آینده ساخته شد (شکل۲). پس از این مرحله شکل‌گیری کاسبرگهای جنینی در دور تا دور مریستم تخت شده صورت می‌گیرد وبا تشکیل کاسبرگها روی نهنج اولیه مشخص می‌شود که ساختمان گل در حال شکل‌گیری می‌باشد.



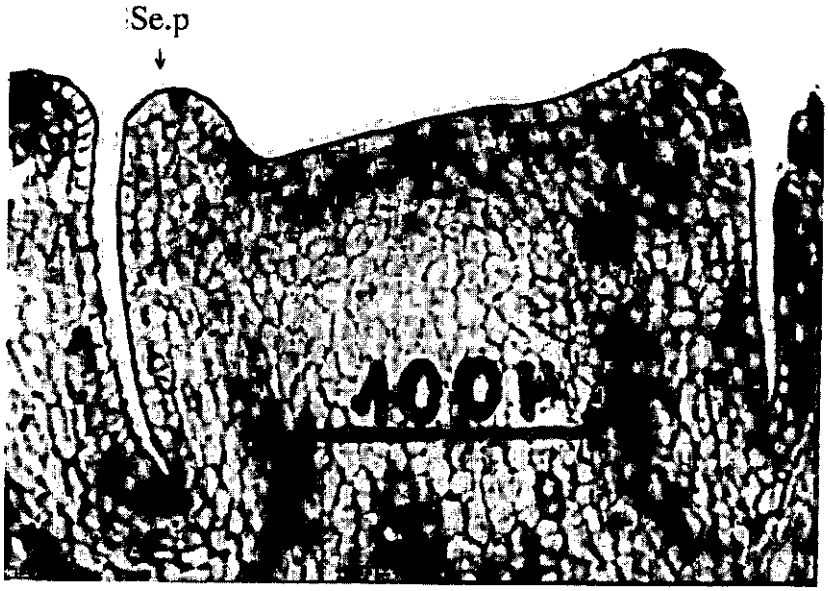
شکل ۱- برش میکروسکوپی از جوانه گل در اولین تاریخ نمونه برداری (اواسط مرداد)
(وضعیت گنبدی شکل مریستم)

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- برش میکروسکوپی از جوانه گل در دومین تاریخ نمونه برداری (اواخر مرداد)
(وضعیت تخت شدن مریستم)



شکل ۳- برش میکروسکوپی از جوانه گل در سومین تاریخ نمونه برداری (اوایل شهریور)
Se.p (Sepal primordium) =کاسبرگهای جنینی

www.SID.ir

Archive of SID

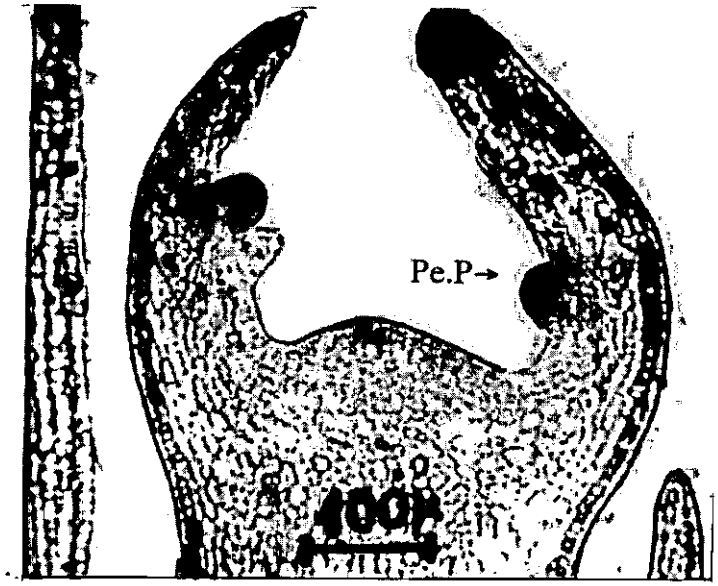
مطالعه بر شهای میکروسکوپی تهیه شده از جوانه‌ها در چهارم شهریور ماه نشان میدهد که تشکیل کاسبرگهای اولیه در شرایط اقلیمی ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند در فاصله زمانی بین اواخر مرداد تا اوایل شهریور اتفاق افتاد(شکل ۳).

پریمور دیای گلبرگ‌ها در قسمت داخلی به صورت متناوب دربین کاسبرگهای جنینی تشکیل می‌شوند. د رابتدا گلبرگها به صورت برجستگی‌های کوچک در کنار کاسبرگها ظاهر شده (شکل ۴) وسپس به مرور زمان و در طی مراحل بعدی گلبرگها بتدریج تکامل یافته ولایه دوم پوششی اعضای زایشی گل آینده را تشکیل می‌دهند. باتوجه به شکل ۴ که از نمونه‌های چهاردهم شهریور ماه تهیه شده‌اند معلوم می‌شود که شکل‌گیری گلبرگهای جنینی در شرایط آزمایشی ما، در محدوده چهارم تا چهاردهم شهریور ماه صورت گرفت.

پریموردیای پرچم‌ها در کنار گلبرگها و در قسمت داخلی‌ترین مجموعه تشکیل گردیدند. پرچم‌های چرخه اول در مجاورت مستقیم گلپوشها ظاهر شدند و پرچم‌های چرخه‌های بعدی به طور متناوب بااولین پرچم‌ها وبه طرف مرکز گل بوجود آمدند. مطالعه برشهای میکروسکوپی مربوط به نمونه‌های بیست چهارم شهریور ماه (شکل ۵) نشان داد که پرچمهای جنینی دراواسط تا اواخر شهریور ماه تشکیل گردیدند.

در ادامه تکامل اعضای مختلف گل، قسمت مرکزی مریستم به طرز خاصی برآمده شده و در نهایت تمایز مادگی آغاز می‌گردد(شکلهای ۴و۵). بطور کلی تکامل مادگی تدریجی بوده وهمزمان باتکامل آن پرچم‌ها نیز حجیم‌تر شده ودر نهایت شکل‌گیری کلاله بر روی خامه وتشکیل بساکها صورت می‌گیرد. بدین ترتیب گل به صورت جنینی تشکیل می‌شود که پس از گذر از یک دوره با دمای‌های پایین ورفع نیاز سرمایی، در بهار سال بعد شکوفا خواهد شد. تشکیل تترادها وتکمیل خواب جوانه‌ها ممکن است همزمان صورت نگیرند. تحقیقات انجام شده بر روی زردآلو وبادام نشان داده‌اند که تشکیل تتراد ورفع نیاز سرمایی جوانه‌ها ضرورتاً به یکدیگر وابسته نیستند چرا که ممکن است در شرایط مساعد در زمستان تشکیل تتراد صورت گیرد در صورتی که هنوز خواب فیزیولوژیکی جوانه‌ها برطرف نشده است (۹و۱۶).

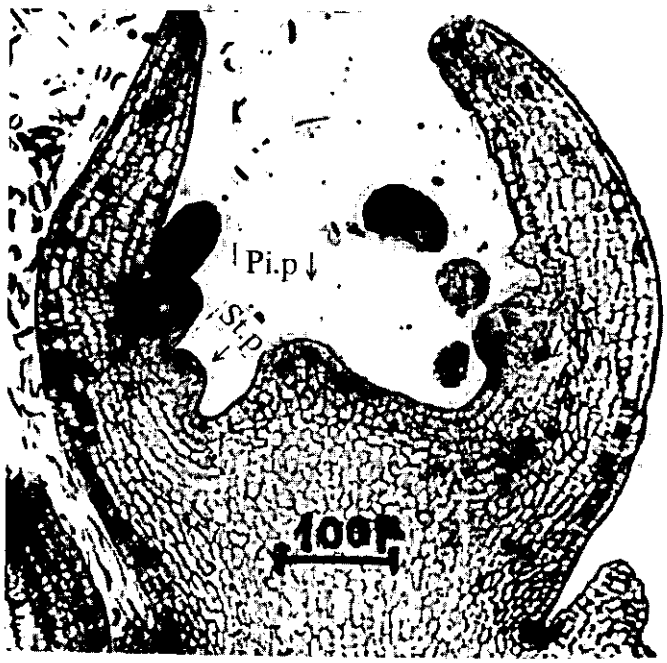
مطالعه برشهای میکروسکوپی تهیه شده از جوانه‌ها نشان داد که تکامل مادگی بتدریج اتفاق افتاده به طوری که در هر بار نمونه برداری ابعاد آن بزرگ‌تر شده و در آخرین مرحله نمونه برداری (اواسط آبان ماه) کلیه اعضای گل به صورت جنینی تشکیل شده وکلاله نیز بر روی خامه شکل گرفته است (شکلهای ۶ و ۷).



شکل ۴- برش میکروسکوپی از جوانه گل در چهارمین تاریخ نمونه برداری (اواسط شهریور)
Pe.p (Petal primordium)=گلبرگهای جنینی

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵- برش میکروسکوپی از جوانه گل در پنجمین تاریخ نمونه برداری (اواخر شهریور)

St.p (Stamen primordium) = پرچمهای جنینی Pi.p(Pistil primordium) = شروع تمایز مادگی

شکل ۶- برش میکروسکوپی از جوانه گل در نهمین تاریخ نمونه برداری (اوایل آبان ماه)

(تشکیل مادگی به صورت ناقص)

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۷- برش میکروسکوپی از جوانه گل در آخرین تاریخ نمونه برداری (اواسط آبان ماه)
(شکل‌گیری کلیه اعضای گل بصورت جنینی)

در این مطالعه از زمان تخت شدن مریستم تا شکل‌گیری کامل گل به صورت جنینی حدود ۱۱ هفته بطول انجامید که با مطالعات وارینر وهمکاران (۱۵) درهلو مطابقت دارد. این مدت زمان یکی از پدیده‌های حیاتی مهم در چرخهٔ زندگی سالیانه درختان میوه محسوب می‌شود. اهمیت این موضوع بیشتر از آن جهت در خور توجه است که همه تلاش‌ها ومدیریت‌ها در یک میوه کاری باید به باردهی اقتصادی آن بیانجامد. لذا، با علم به مکانیسم وروند این پدیده حیاتی انجام عملیات باغبانی متناسب بافیزیولوژی نبات در این مرحله از جمله آبیاری، کوددهی و مبارزه با آفات وامراض درجهت حفظ برگهای سالم وشاداب که لازمه سنتز مواد هیدروکربنه می‌باشند جهت تکامل گلهای قوی امری ضروری به شمار می‌رود. این موضوع در مورد هسته دارها بیشتر صادق می‌باشد چرا که اغلب هسته‌دارها ممکن است گلهایی با مادگی تکامل نیافته تولید کنند که این امر عمدتاً در میوه‌بندی تأثیر زیادی خواهد داشت. چنین گلهایی ممکن است حتی قبل از تلقیح سقط کنند. به طوری که در زردآلو فقط گلهایی که دارای مادگی ۱۴ میلی متر ویا بیشتر می‌باشند در درخت باقی مانده و میوه‌بندی در آنها صورت می‌گیرد (۷).

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

۱ـ راحمی، مجید. ۱۳۷۰. گرده افشانی وتشکیل میوه (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز.

۲ـ عطری، مرتضی. ۱۳۷۵. ارگانوژنز (اندام زایی) ومورفوژنز(ریخت زایی) گیاهی. چاپ دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه.

۳ـ قاسمی، ایوبعلی. ۱۳۷۴. بررسی ارگانوژنز درسیب رقم گلدن دلیشز. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.

4- Baker,D.1977.Atlas of flowering plant structure.Longman Group.

5- DiazD., H., Rasmussen, H.P., and Dennis, Jr. F. G. 1981. Scanning electron microscope examination of flower bud differentiation in sour cherry.J.Amer.Soc.Hort.Sci., 106(4): 513-515.

6- Edwards,GR. 1986.Ammonia, arginine, ployamines and flower initiation in apple. Acta Horticulturae,179;363-365.

7- Faust, M.1989.Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley & Sons.

8- Gifford, E.M.and Foster,A.S.1989.Morphology and evolution of vascular plants. W.H Freeman and Compony.

9- Guerriero, R.and Bartolini, S.1993. Flower biology in apricot: main aspects and problems. The International Symposium on Apricot Culture. September 20-24,Izmir, Turkey.pp. 261-272.

10- Guimond,C.M., Andrews, P.K., and Lang, G.A.1998. Scanning electron microscopy of floral initiation in sweet cherry. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 123(4):509-512.

11- Jenes,W.A.1962.Botanical histochemistry. Freeman and Company.

12- Lin,J.,Shabany,B.,and Ramos,D.1977. Pistillate flower development and fruit growth in some English walnut cultivars. J. Amer. Soc. Hort.Sci., 102(6):702-705.

13- Proietti,P. and Tombest,A.1996. Effects of gibberellic acid, asparagine and glutamine on flower bud induction in olive. J. Hort. Sci. 71(3):383-388.

14- Raseira, M.C.B. and Moore,J.N.1987.Time of flower bud initiation in peach cultivars differing in chilling requirement. Hort. Science, 22(2): 216-218.

15- Warriner,C.L., Johnson, J.L., and Smith, M.W.1985. Comparison of the initiation and development of 'Redhaven' peach flowers in standard and meadow orchard trees.J.Amer.Soc. Hort. Sci.,110(3):379-383.

16- Weibaum, S.A.,Polloto,V.S., and Muraoka,T.T.1989. Assessment of rest completion and its relationship to appearance of tetrads in anthers of 'Nonpareil' almond. Scientia Horticulturae,38: 69-76.

www.SID.ir