مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی ، (JSIAU)
شماره ۶۲/۱ زمستان ۱۳۸۵

بررسی روند تکوینی- یاخته‌ای ریزغده‌زایی گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)، رقم مارفونا

مصطفی عبادی
گروه زیست‌شناسی ، واحد دامغان ، دانشگاه آزاد اسلامی ، دامغان ، ایران
علیرضا ایرانبخش*
گروه زیست‌شناسی ، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد* اسلامی ، گرمسار ، ایران

چکیده

بررسی روند تقسیمات میتوزی و حجیم شدن یاخته‌ها، کلیدی برای روشن شدن چگونگی تشکیل ریزغده‌ها از جوانه‌های جانبی در شرایط القایی است. در جوانه‌های القاء شده، یاخته‌های مریستمی که دارای رنگ‌پذیری سیتوپلاسمی و هسته‌ای بالایی بودند تا بخش‌های عمقی آن توسعه یافته، در حالی‌که این منطقه در جوانه‌های القاء نشده، محدود به بخش‌های رأسی آن می‌شد. اولین علائم ریزغده‌زایی که تا حدودی هم‌زمان، در جوانه‌های القاء شده دیده شد حجیم شدن یاخته‌های پارانشیم پوستی در بخش زیرین و در یک پهلوی آن، و نیز تقسیمات میتوزی در بخش‌های عمقی مریستم بود. این تغییرات حدود روز چهارم قابل مشاهده بود. عمده‌ی رشد در محور طولی و عرضی، طی دو هفته‌ی اول در محیط القایی رخ داد. هم‌زمان با رشد قطری ریزغده‌ها، بخش قاعده‌ای برگ‌های موجود بر روی ریزغده‌ها دچار رشد شعاعی شده، به‌علت توقف رشد در محل جوانه‌ی جانبی، این جوانه‌ها در شیار و فرورفتگی قاعده‌ی برگ‌ها قرار گرفتند. یاخته‌های پارانشیم پوستی ضمن توسعه‌ی واکوئولی خود، سریع‌تر و به‌مراتب زودتر از یاخته‌های پارانشیم مغزی، در محل میان‌گره‌های درحال طویل شدن، تشکیل دانه‌های نشاسته را آغاز کردند. طویل شدن یاخته‌ها در ناحیه‌ی زیر رأسی نقش به‌سزایی در رشد طولی ریزغده‌ها دارد. حجیم شدن ریزغده‌ها در آغاز نتیجه‌ی تغییر در ابعاد یاخته‌های پارانشیم پوستی و مغزی حاصل از فعالیت تکثیری مریستم رأسی و نیز فعالیت تکثیری در پارانشیم پوست و مغز است. در آغاز، رشد در محور طولی نسبت به رشد عرضی برتری بود اما با تغییر محل واکوئل‌ها در یاخته‌ها و استقرار در محور عرضی ریزغده‌ها، الگوی رشد یاخته‌ها تغییر کرده، رشد قطری یاخته‌ها به رشد طولی برتری یافت. یاخته‌های پارانشیم مغزی در غده‌های بالغ، ابعاد یاخته‌ای بزرگ‌تری نسبت به پارانشیم پوستی دارند. رشد عرضی یاخته‌های پارانشیم مغزی سریع‌تر از یاخته‌های پارانشیم پوستی متوقف شد. روند افزایش تعداد یاخته‌ها در محور طولی و عرضی ریزغده‌ها مشابه با تغییرات ابعاد ریزغده‌ها است و با رسیدن ابعاد ریزغده‌ها به حدود mm ۸-۷ این رشد متوقف شد.

واژه‌های کلیدی: کشت بافت، ریزغده، تکوین ریزغده‌ها

* عهده‌دار مکاتبات

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

غده‌ی سیب‌زمینی، منبع غذایی بسیاری از جمعیت‌های انسانی است و تنوع محصولات صنعتی آن به اَشکال مختلف و زیادی، از اهمیت اقتصادی زیادی برخوردار می‌باشد [۱،۲]. بنابر این، شناخت از چگونگی نمو و ساختار غده‌ها به‌منظور بهبود کیفیت آن و نیز عوامل کنترل‌کننده‌ی بنیانگذاری و رشد غده‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است [۳]. تشکیل غده‌های سیب‌زمینی دارای دو جنبه‌ی متفاوت است: الف) نمو ریخت‌شناختی غده‌ها و ب) تغییرات بیوشیمیایی که منجر به تشکیل و ذخیره‌ی نشاسته می‌شود. فرآیند اخیر (تغییرات بیوشیمیایی) طی ده‌های گذشته به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است، اما تغییرات و جنبه ریخت‌شناختی ریزغده‌زایی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. تکوین و ساختار غده‌ی سیب‌زمینی توسط پژوهشگران مختلف مورد بررسی قرارگرفته است [۴]. غده‌ی سیب‌زمینی دارای برگ‌ها و جوانه‌های جانبی است که در آن، میان‌گره‌ها کوتاه و محور ساقه‌ای به‌صورت شعاعی توسعه یافته است. یک انتهای غده که محل استقرار مریستم رأسی استولون است انتهای جوانه‌ای، و انتهای دیگر آن که چسبیده به استولون می‌باشد انتهای ناف یا انتهای ساقه‌ای نامیده می‌شود [۵]. با فعالیت رأس استولون، برگ‌ها با آرایش برگی مارپیچ به‌وجود می‌آیند. این برگ‌ها، همراه با جوانه‌های جانبی به‌عنوان «چشم‌های» غده‌ی سیب‌زمینی معرفی شده‌اند. هر چشم غده‌ی سیب‌زمینی یک گره‌ی ساقه‌ای است و از یک جوانه‌ی جانبی تشکیل شده است که برگ‌های فلسی آن را پوشانده‌اند [۶].

حجیم شدن اولیه ناحیه‌ی زیر رأسی استولون‌ها نتیجه‌ی افزایش اندازه‌ی یاخته در ناحیه مغزی و به‌دنبال آن افزایش تقسیم یاخته‌ای، هم‌زمان با حجیم شدن یاخته‌ها است [۷]. تغییرات در پارانشیم پیرامون فلوئم داخلی (یا پارانشیم پیرامون مغزی) و با شدت کمتر در پارانشیم پیرامون فلوئم خارجی (یا پارانشیم محیطی) دخالت بیشتری در حجیم شدن غده دارند [۸]. اما این تقسیمات سریع‌تر از رشد غده متوقف می‌شود. اندازه‌ی نهایی غده نتیجه‌ی افزایش حجم یاخته، به ویژه در یاخته‌های پارانشیم پوستی درونی‌تر و پیرامون مغز است [۹]. نشاسته مهمترین ماده‌ی قابل تبدیل در غده‌ی سیب‌زمینی است. بیشتر دانه‌های نشاسته در غده، ساده با ناف کناری و لایه‌بندی مشخص است. گاه دانه‌های نشاسته‌ی مرکب با بیش از یک ناف نیز دیده شده است. دانه‌های نشاسته دارای غشاء محاط کننده می‌باشد، زیرا آنها در پلاستیدهای ویژه‌ای به نام آمیلوپلاست نمو می‌یابد [۱۰].

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی روند تکوین- یاخته‌ای ریزغده‌زایی، ریزغده‌های حاصل از کشت بافت در محیط القایی MS [۱۱] دارای ساکارز $^{-1}$gl ۸۰، BAP $^{-1}$mgl ۱۰) [۱۲،۱۳] و در شرایط تاریکی و محدوده‌ی حرارتی ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد [۱] در مراحل مختلف رشد، در FAA (الکل اتانول ۷۰٪، فرمالین ۳۷٪، استیک اسید گلاسیال) به مدت ۲۴ ساعت تثبیت شدند [۱۴]. آب‌گیری و شفاف‌سازی با استفاده از ایزوپروپانول ۳۰٪، ۴۰٪، ۵۰٪، ۷۰٪، ۹۰٪، ۱۰۰٪ (سه تعویض) صورت پذیرفت. برای نفوذ پارافین از نسبت‌های ۱:۱ ایزوپروپانول:پارافین و در نهایت پارافین خالص، و برای قالب‌گیری نمونه‌ها از پاراپلاست (Merck) استفاده شد. با میکروتوم Leica برش‌های طولی و عرضی ۸ میکرومتر از نمونه‌ها تهیه شد. برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از هماتوکسیلین مایر وائوزین الکلی (۷۰٪)استفاده گردید[۱۵].

Archive of SID

www.SID.ir

بعد از آب‌گیری مجدد با الکل اتانول مطلق و انتقال به گزیلول، با استفاده از چسب انتالن مقاطع چسبانده شدند. بررسی ساختارهای بافتی و یاخته‌ای ساقه‌ها، مریستم‌ها و ریزغده‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری دوچشمی Nikon مدل Photo Alpha و آنالیز تصویری Leica صورت گرفت.

نتایج

جوانه‌های جانبی پای برگ‌ها، به‌طور معمول دارای یک محور شاخه‌ای کوتاه هستند که از بخش قاعده‌ای خود به ساقه متصل شده‌اند. در بخش فوقانی این محور، گنبد مریستمی که دو یا چند طرح اولیه‌ی برگی آن را در برگرفته‌اند، قرار دارد (شکل ۱A). این جوانه‌ها در صورتی‌که در شرایط رشدی و یا القایی قرار نگیرند با بخش‌های زیر خود ارتباط پروکامبیومی و آوندی برقرار نمی‌کنند و در صورت رشد سیستم آوندی آن با سیستم آوندی ساقه مرتبط می‌شوند. شدت رنگ‌پذیری در بخش محور ساقه‌ای و زیر گنبد مریستمی کم است و در بخش‌های رأسی به ویژه در پهلوی‌های برگ‌ساز (کانون‌های برگ‌زایی) شدت رنگ‌پذیری افزایش می‌یابد. برگ‌ها با الگوی برگی متناوب و مارپیچ در پهلوهای گنبد مریستمی ظاهر می‌شوند (شکل ۱A). یاخته‌های تمایزیافته در بخش‌های زیر رأسی دیده می‌شوند. این یاخته‌ها به‌علت توسعه‌ی سیستم واکوئولی، طویل شده و آثار تمایز از خود نشان می‌دهند. یاخته‌های بنیادی و مریستمی، تنها به چندین لایه‌ی رأسی مریستم محدود می‌شود. قبل از بروز هر گونه تغییرات تشریحی در مریستم‌های جانبی در محیط القاء بنیانگذاری ریزغده‌ها، اولین علامت عمومی، تشکیل دانه‌های نشاسته متعدد در یاخته‌های پارانشیمی پوست و مغز شاخه‌هایی است که جوانه‌ها به آن متصل شده‌اند (شکل ۱B). همگام با این تمایز، تعداد محدودی از جوانه‌های القاء شده‌ی جانبی که به‌طور عموم در بخش‌های تحتانی شاخه‌ها مستقرند، به‌واسطه‌ی توسعه‌ی بافت مریستمی تا بخش زیررأسی و شدت رنگ‌پذیری و الگوی تقسیمات یاخته‌ای خود، از مریستم‌های جانبی رویشی القاء نشده، قابل شناسایی هستند. این جوانه‌ها در مراحل بعدی به ریزغده‌ها نمو می‌یابند. جوانه‌های القاء شده که از نظر اندازه، کوتاه‌تر و فشرده‌تر از مریستم‌های جانبی القاء نشده، هستند (شکل۱B) ضمن تشکیل طرح‌های اولیه برگی با آرایش متناوب، با ساختار ساقه‌ای زیر خود ارتباط پروکامبیومی و آوندی برقرار می‌کند.

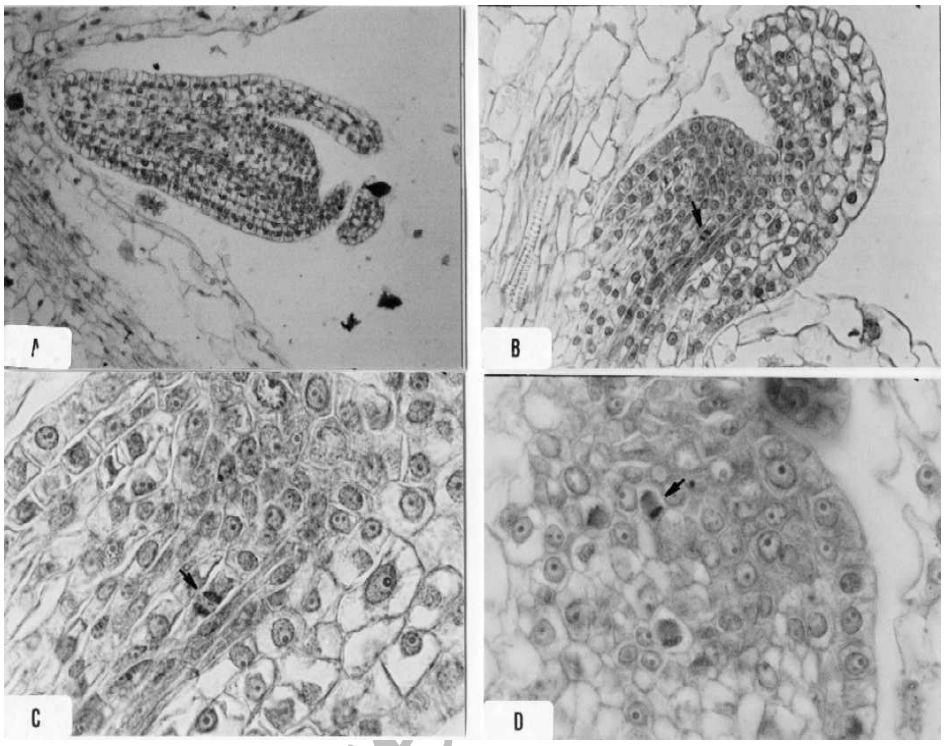
برای ریزغده‌زایی اولین تقسیمات یاخته‌ای در این مریستم‌ها را می‌توان روز چهارم بعد از استقرار در محیط‌های القایی در بخش‌های زیررأسی مشاهده کرد (شکل ۱C). قبل از این تقسیمات عمقی، در بخش‌های پیرامونی و زیر طرح‌های اولیه‌ی برگی جوانه‌های القاء شده، یاخته‌ها تمایز یافته، و سیستم واکوئولی در آنها توسعه می‌یابند و هسته‌ی آنها به‌تدریج از بخش‌های فوقانی به بخش‌های تحتانی و به سمت دیواره‌های جانب مرکز جابه‌جا می‌شوند (شکل ۱D). در این یاخته‌ها هنوز آثار انباشتگی دانه‌های نشاسته مشاهده نمی‌شود. در همین زمان یا با اندکی تأخیر، فعالیت تقسیم یاخته‌ای در بخش‌های رأسی گنبدی مریستمی آغاز می‌گردد (شکل ۲A). این تقسیمات در جهات مختلف از جمله در جهت محور طولی مریستم می‌باشد که نشانگر افزایش تعداد یاخته‌ها در بخش‌های مریستم است. این تقسیمات به‌طور عمده در بخش‌های حاشیه‌ای و پهلوهای مریستم رخ می‌دهد (شکل‌های ۲B,C). در پهلوهای مریستم می‌توان تقسیمات پری‌کلینال (شکل ۲C) و در بخش‌های عمقی‌تر این ناحیه، تقسیمات آنتی‌کلینال را مشاهده کرد. فعالیت برگ‌زایی مریستم‌ها، با اندکی تاخیر نسبت به حجیم شدن بخش زیرین

Archive of SID

www.SID.ir

آنها رخ می‌دهد. مجموعه‌ی این فعالیت در ارتباط با برگ‌زایی در پهلوی مریستم می‌باشد. در زیر و بین ناحیه‌ی جانبی و ناحیه‌ی رأسی، یاخته‌هایی مشاهده می‌شوند که به‌عنوان مریستم مغزی عمل می‌کنند و یاخته‌های حاصل از این بخش به سرعت تمایز یافته، حجیم می‌شوند و پارانشیم مغزی را می‌سازند.

A

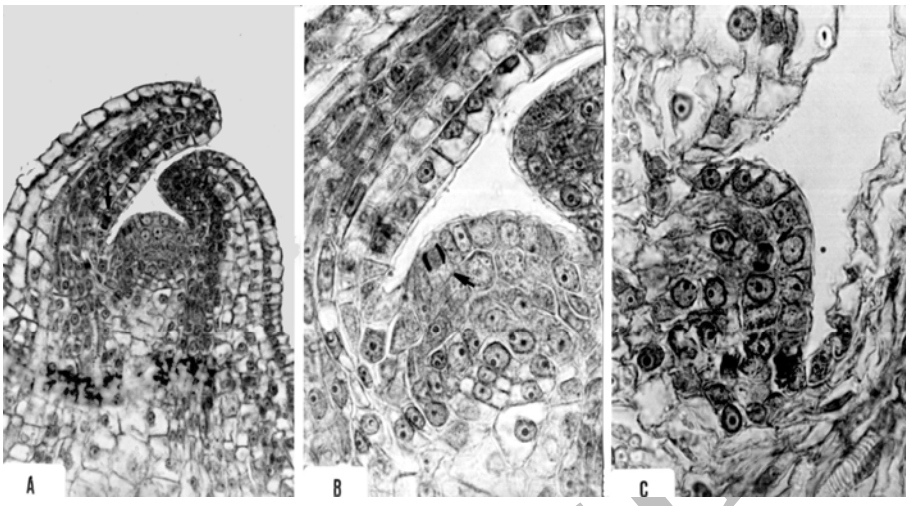


شکل۱- ساختار تشریحي مریستم‌هاي غیرالقایي و القایي. (A) برش طولي از مریستم‌هاي جانبي غیرالقایي که در آن، دو طرح اولیه‌ي برگی و گنبد مریستمی دیده می‌شود. بنیادهای برگی به‌صورت متناوب در پهلوهای مریستم شکل می‌گیرند (۲۰۰×).(B) مریستم القاء شده برای ریزغده‌زایی. گسترش یاخته‌های مریستمی تا مناطق عمقی مریستم دیده می‌شود. یک طرح اولیه‌ی برگی در پهلوی مریستم تشکیل شده است (۲۰۰×). (C) اولین آثار تقسیم را می‌توان در عمق مریستم دید که به‌صورت پری‌کلینال یا (D) آنتی‌کلینال می‌باشد. در این دو شکل یاخته‌هایی را می‌توان دید که در مراحل مختلف تقسیم هسته‌ای (میتوز) هستند(۴۰۰×).

یاخته‌های روپوستی سطح پشتی طرح‌های اولیه‌ی برگی، تمایز خود را بسیار سریع‌تر از یاخته‌های روپوست سطح شکمی آغاز کرده، واکوئول‌دار می‌شوند. این وضعیت در یاخته‌های مزوفیلی در حال تشکیل نیز دیده می‌شود. طی تمایز و طویل شدن یاخته‌های روپوستی، واکوئول‌هایِ در حال حجیم شدن، به سمت دیواره‌های خارجی و سطحی این یاخته‌ها جابه‌جا می‌شوند و به مانند ساختاری محافظ، هسته را که در سمت داخل قرار گرفته است می‌پوشاند.

Archive

www.SID.ir

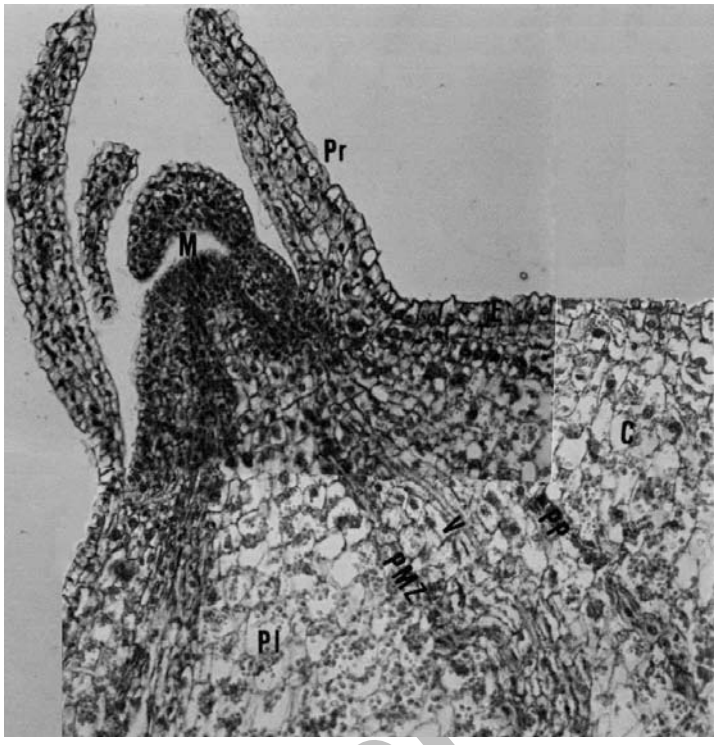


شکل۲- فعال شدن مریستم رأسی ریزغده. (A) (۲۰۰×)**،(B)** (۴۰۰×) **و (C)** (۴۰۰×). در این شکل‌ها, نمای کلی مریستم (A) و فعال شدن تقسیم یاخته‌ای را در بخش‌های پیش پوستی و ناحیه‌ی مجاور رأس مریستم می‌توان مشاهده کرد. شکل (B) به خوبی نشان می‌دهد که هسته‌ی یاخته‌های پیش پوستی و روپوستی در حال تشکیل، ضمن توسعه‌ی واکوئول‌ها به سمت درون سلول روپوستی برگ جابه‌جا می‌شود که می‌تواند یک سیستم حفاظتی از هسته محسوب شود. در شکل‌های (A) و (C) آثار تمایز عناصر آوند چوبی در زیر مریستم و در ارتباط با طرح‌های اولیه‌ی برگی به خوبی قابل رویت است.

بررسی برش‌های طولی متعدد به‌خوبی نشان می‌دهد که فرآیند حجیم شدن ریزغده‌ها فرآیندی رو به رأس (آکروپتال) است که در زیر مریستم رأس آغاز می‌گردد (شکل ۳). در محل میان‌گره‌های درحال طویل شدن، یاخته‌های پارانشیم پوستی ضمن توسعه‌ی واکوئولی، سریع‌تر و به‌مراتب زودتر از یاخته‌های پارانشیم مغزی، نشاسته‌سازی و تشکیل دانه‌های نشاسته را آغاز می‌کنند (شکل ۴). تأخیر در شکل‌گیری دانه‌های نشاسته در یاخته‌های پارانشیم مغزی هم از نظر مکانی و هم از نظر زمانی در زیر مریستم رخ می‌دهد. هم‌چنین در ریزغده‌ها، انباشتگی دانه‌های نشاسته در پهلوی دور از ساقه‌ی جوانه‌ها، سریع‌تر از پهلوی نزدیک به ساقه، آغاز می‌گردد. فعالیت مریستم رأسی در قطب مریستم رأسی و حجیم شدن و تکثیر یاخته‌های پارانشیمی باعث رشد طولی و عرضی ریزغده‌ها می‌گردد. چون روند تمایز در یک پهلوی ریزغده سریع‌تر از پهلوی دیگر آغاز می‌شود در برش‌های طولی، ریزغده‌ها تقارن دو طرفی ندارند.

Archive of SID

www.SID.ir

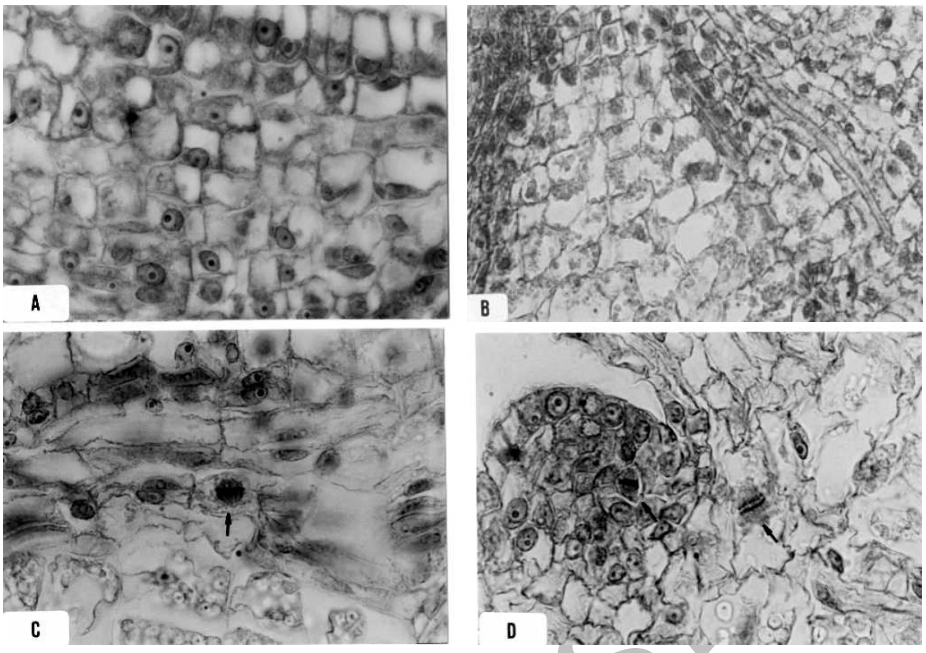


شکل ۳- ساختار تشریحی ناحیه‌ی زیررأسی در ریزغده‌های در حال نمو. نمای کلی از ناحیه زیررأسی. گنبد مریستمی(M)، طرح اولیه‌ی برگی(Pr)، روپوست(E)، پارانشیم پوستی(C)، بافت مولد پارانشیم پیرامون فلوئم خارجی(PP)، آوند چوبی(V)، بافت مولد پارانشیم پیرامون مغزی(PMZ)، پارانشیم مغزی(Pi). در بافت پارانشیم مغزی می‌توان تغییر در الگوی رشد را با افزایش فاصله از مریستم مشاهده کرد(۲۰۰*).

علت رشد قطری در ریزغده‌ها تغییر الگوی رشد در یاخته‌های پارانشیم پوستی و مغزی در زیر مریستم است که در ابتدای در جهت طولی رشد می‌کنند اما با افزایش فاصله از رأس، این یاخته‌ها در جهت عرضی رشد زیادتری پیدا می‌کنند (شکل ۴A). تغییرات الگوی رشد در پارانشیم پوستی سریع‌تر از پارانشیم مغزی آغاز می‌گردد. در زیر ناحیه‌ی مریستمی، پارانشیم پوستی و مغزی در حال تشکیل و نیز آوندها، به‌ویژه آوندهای چوبی در حال تمایز را می‌توان مشاهده کرد (شکل ۴B). در بخش‌های عمقی این بافت‌ها، هم‌زمان با این تغییرات، دانه‌های نشاسته تشکیل و تعداد و اندازه آنها افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد علاوه بر نقش رشد یاخته‌های پارانشیمی پوستی و مغزی حاصل از مریستم رأسی و تغییر الگوی رشد آنها که توأم با افزایش حجم واکوئل‌ها است (شکل ۴B) انجام تقسیمات آنتی‌کلینال و پری‌کلینال متعدد در بافت پارنشیم پوست و مغز (شکل‌های ۴C, D) در رشد قطری ریزغده‌ها نقش دارند.

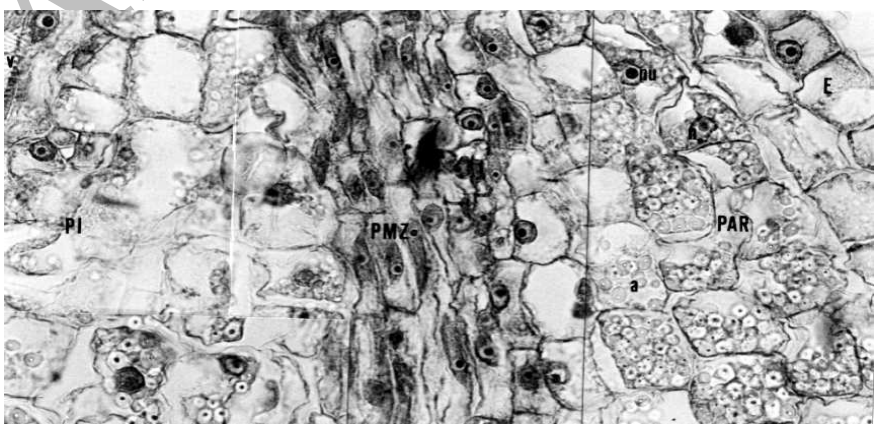
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴- توسعه‌ی بافت پارانشیم در ناحیه‌ی زیرراسی. (A) در ناحیه زیر رأس و بافت پارانشیم پوستی در حال تشکیل, یاخته‌ها ضمن نشاسته سازی, ابتدا دچار رشد طولی شده و سپس دچار رشد شعاعی می‌شوند (۴۰۰*). این تغییر الگوی رشد توأم با جابه‌جایی واکوئول در یاخته است. (B) در بافت پارانشیم مغزی پیرامونی نیز تقسیم یاخته‌ای از عوامل حجیم شدن یاخته‌ها می‌باشد (۴۰۰*). (C) در بافت پارانشیم داخلی پوست نیز تقسیم یاخته‌ای مشاهده می‌گردد (۴۰۰*). (D) تقسیمات مختلف و در جهات مختلف در ناحیه رأسی و زیر رأسی (۴۰۰*).

انباشتگی دانه‌های نشاسته در پارانشیم پوست بیشتر از پارانشیم مغزی است (شکل ۵). بررسی برش‌های طولی (شکل ۵) و عرضی ریزغده‌های در حال تشکیل نشانگر آن است که بخش عمده‌ی دانه‌های نشاسته در بخش پارانشیم پوستی تجمع می‌یابد و یاخته‌های پارانشیم مغزی بزرگ‌تر و سیستم واکوئولی توسعه یافته‌تر هستند، اما میزان دانه‌های نشاسته در آنها به‌مراتب کمتر از پارانشیم پوستی است. حجیم شدن و تکثیر یاخته‌های پارانشیمی ناحیه‌ی پوست و مغز باعث می‌گردد که سیستم آوندی که در زیر رأس در محیط دایره‌ای قرار دارد از آرایش خود خارج شود و سیستم آوندی به‌صورت خطوط شکسته با رنگ‌آمیزی متفاوت (به‌علت وجود بافت پیرامون مغزی) با ظاهری پراکنده در حد و مرز تقریبی پارانشیم پوست و مغز دیده شود.



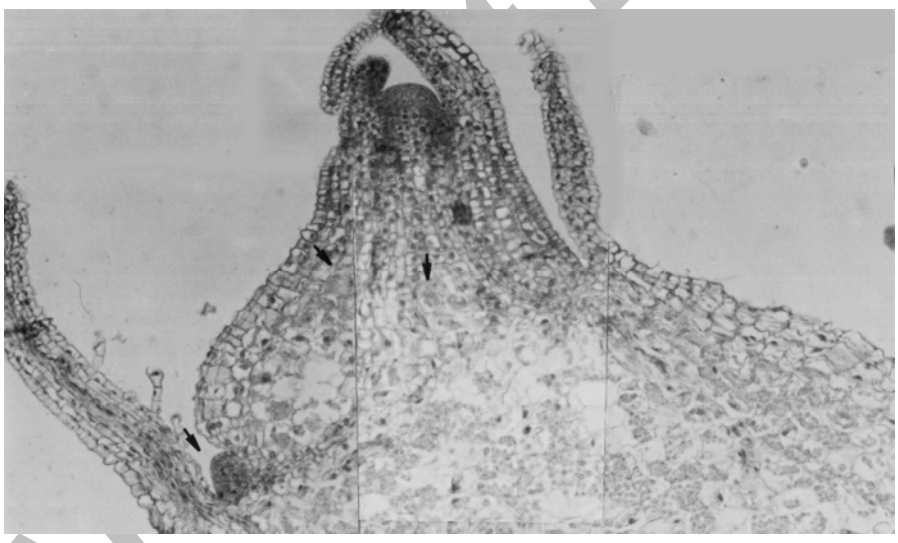
شکل ۵- ساختار تشریحی بخش‌های عمقی ریزغده‌ها. روپوست (E)، پارانشیم پوستی (C)، آوند چوبی(V)، پارانشیم پیرامون مغزی (PMZ)، پارانشیم مغزی (Pi). در این مناطق بافت پارانشیم پیرامون فلوئم خارجی مشاهده نمی‌شود (۴۰۰×).

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه یاخته‌های روپوستی در برش‌های طولی (شکل ۶) نشان می‌دهد در فاصله‌ی میان‌گره‌های در حال حجیم شدن در ردیف یاخته‌های روپوستی بافت برون پوستی به سرعت تمایز می‌یابد. فلوژن با منشاء روپوستی فعالیت خود را به‌صورت تقسیمات پری‌کلینال نامتقارن آغاز می‌کند که منجر به تشکیل دو ردیف یاخته‌ای می‌گردد. لایه‌ی خارجی از یاخته‌های کوچک و لایه‌ی داخلی ازیاخته‌های بزرگ‌تر تشکیل شده‌اند. یاخته‌های لایه‌ی خارجی ضمن حجیم شدن نسبی به فعالیت تکثیر خود ادامه می‌دهد و یاخته‌های ردیف خارجی‌تر را می‌سازند. دیواره‌های یاخته‌ای در این بافت به‌سرعت به چوب پنبه آغشته می‌شوند و می‌میرند. پارانشیم پسین بسیار محدودی از فعالیت فلوژن شکل می‌گیرد. مجموعه‌ی فلم، فلوژن و فلودرم آرایش منظم، ردیفی و شعاعی دارند. در بخش‌های مسن بافت‌های برون پوستی عدسک‌ها شکل می‌گیرد.

در بخش قاعده‌ای، طرح‌های اولیه‌ی برگی جوان (شکل ۶) نزدیک به رأس جوانه جانبی دیده نمی‌شود و تشکیل مریستم‌های جانبی با تأخیر و در فاصله‌ی دور از رأس در قاعده‌ی طرح اولیه‌ی برگی به‌صورت ساختاری گنبدی شکل و از تقسیمات زیر سطحی شکل می‌گیرد.



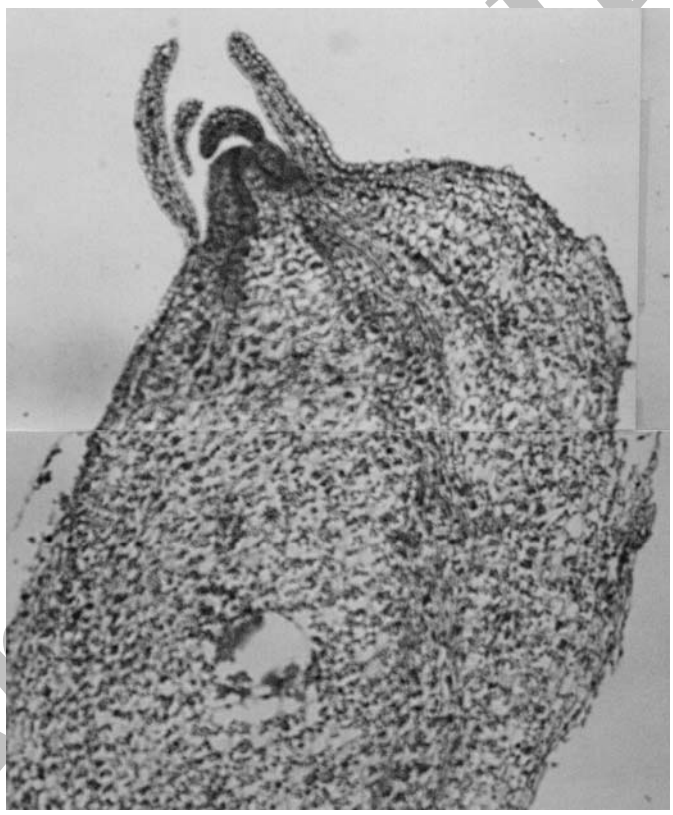
شکل ۶- نمایی از بخش رأسی و ناحیه در حال حجیم شدن زیررأسی ریزغده. در این شکل، مریستم رأسی، میان‌گره‌های در حال حجیم شدن و پراکنش دانه‌های نشاسته در بافت پارانشیم پوستی و مغزی مشاهده می‌شوند. ضمن فعالیت مریستم و برگ‌زایی در بخش‌های پهلوهای آن در پای طرح‌های اولیه‌ی برگی جوانه‌ها تشکیل نمی‌شود. این مریستم‌ها با تأخیر زمانی با تمایززدایی و تکثیر یاخته‌ها در پای طرح اولیه‌ی برگی شکل می‌گیرند. دانه‌های نشاسته در پارانشیم پوستی تمایز خود را سریع‌تر از پارانشیم مغزی آغاز می‌کند (۲۰۰×).

در مراحل اولیه، افزایش یاخته‌ها در محور طولی ریزغده بیشتر از محور عرضی است (شکل ۷)، اما با فعال شدن بافت پیرامون مغزی و افزایش تعداد و ابعاد حجم یاخته‌های پارانشیم مغزی و پوستی، رشد قطری ریزغده‌ها افزایش به‌سزایی می‌یابد.

Archive of SID

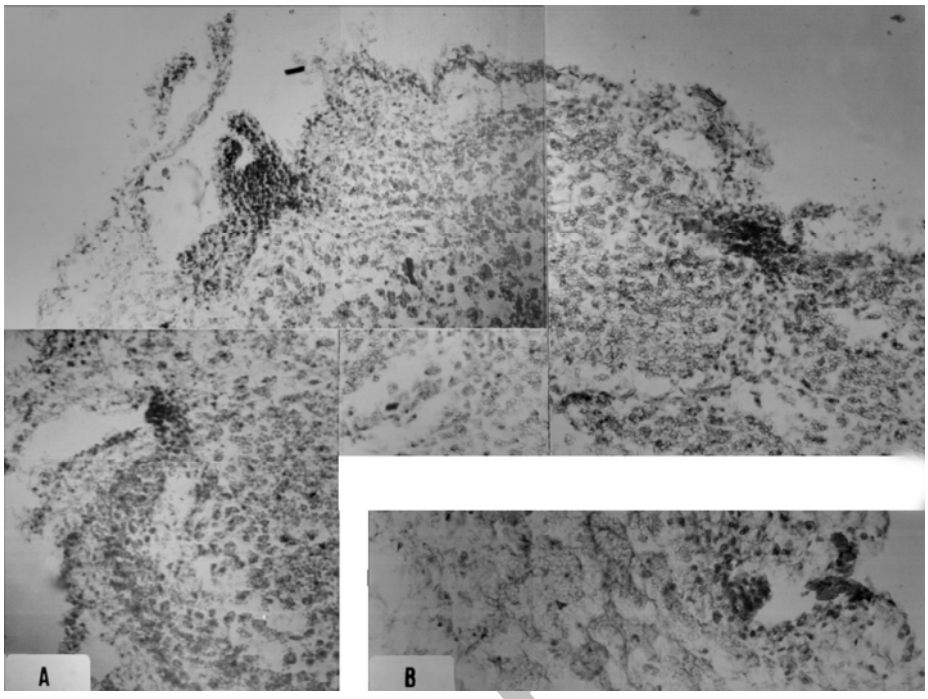
www.SID.ir

هم‌زمان با این تغییرات در ریزغده‌ها، مریستم رأسی آن به فعالیت برگ‌زایی خود ادامه می‌دهد اما هنگامی‌که مریستم، بین دو تا چهار برگ را به‌وجود آورد فعالیت تکثیری و برگ‌زایی آن کاسته می‌شود اما حجیم شدن یاخته‌های در زیر مریستم ادامه یافته، و بخش‌های پیرامونی مریستم‌های رأسی غده را در برمی‌گیرد. در این وضعیت، مریستم حالت عمقی پیدا می‌کند و آخرین طرح‌های اولیه برگی تشکیل شده به‌صورت فلس‌های محافظ آن را می‌پوشاند (شکل‌های A, B ۸). در این‌حال می‌توان جوانه‌ی رأسی و جوانه‌ی جانبی به‌صورت نیمه‌عمقی در بافت ریزغده قرار می‌گیرند و توسط برگ‌های فلسی پوشانده می‌شوند. روند افزایش تعداد یاخته‌ها در محور طولی و عرضی ریزغده‌ها مشابه با تغییرات ابعاد ریزغده‌ها است و با رسیدن ابعاد آنها به حدود ۸-۷ mm این رشد متوقف می‌شود.



شکل ۷ نمایی کلی از ریزغده درحال تشکیل. در این برش می‌توان حجیم شدن یاخته‌ها, تجمع دانه‌های نشاسته و تمایز پروکامبیوم را در ناحیه رأسی مشاهده کرد. این شکل، نامتقارن بودن رشد در ریزغده‌ها را به‌خوبی نشان می‌دهد, یاخته‌های پهلوی دور از ساقه ریزغده‌ها سریع‌تر از پهلوی نزدیک به ساقه‌ی آن در ناحیه زیر رأس دچار حجیم شدن می‌شوند که این رشد باعث عدم تقارن ریزغده‌ها می‌گردد(۱۰۰*).

www.SID.ir



شکل ۸- ساختار و موقعیت مریستم رأسی و جانبی در ریزغده‌های بالغ. (A) (۱۰۰×) و (B) (۲۰۰×) موقعیت نسبی مریستم رأسی و جوانه‌های جانبی در ریزغده‌های بالغ که توسط برگ‌های فلسی و بافت‌های پارانشیم ذخیره‌ای محافظت می‌شوند.

بحث نهایی

غده‌های سیب‌زمینی از استولون‌هایی به‌وجود می‌آیند که خود از شاخه‌های فرعی شکل گرفته‌اند و به‌طور معمول در گره‌های قاعده‌ای گیاه قرار می‌گیرند. بنیانگذاری غده‌ها یا غده‌زایی، با تغییر رشد طولی استولون به رشد شعاعی آغاز می‌شود [۱۶]. هر غده‌ی بالغ دارای برون پوستی، متشکل از فلم (بافت چوب‌پنبه)، فلوژن (کامبیوم چوب‌پنبه‌ساز) و فلودرم (بافت پارانشیم پوستی پسین) است. یاخته‌های طویل بافت پارانشیم پوستی، بافت برون پوستی را از حلقه‌ی آوندی و مغز جدا می‌کند [۷]. جوانه‌های موجود در چشم‌ها، ساختار تشریحی مشابه‌ای با جوانه‌های رأس شاخه‌ها دارد [۱۷].

یافته‌های بیوشیمیایی طی فرآیند غده‌زایی نشان داده است که ساخت نشاسته قبل از حجیم شدن ریزغده‌ها آغاز می‌گردد [۱۸]. سطح قند فروکتوز، گلوکوز و آنزیم انورتاز خنثی، با یکدیگر همبستگی مثبت دارند، که نشانگر نقش مهم این آنزیم در انباشتگی قندهای ذخیره‌ای در غده‌های در حال نمو است [۱۹، ۲۰].

تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها، هر دو، در نمو غده‌ها دخالت دارند [۲۱]. روشن نیست که آیا توسعه‌ی اولیه‌ی استولون نتیجه‌ی تقسیم یاخته‌ای است یا حجیم شدن یاخته‌ها. برخی از پژوهشگران گزارش کرده‌اند که قبل از افزایش ابعاد یاخته‌ها، فعالیت میتوزی رخ می‌دهد. سایر مشاهدات نشانگر آن است که توسعه‌ی شعاعی اولیه ناشی از افزایش قطر یاخته‌ها است [۴]. بنابر این، زمان‌بندی تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ای به‌طور دقیق روشن نیست. مطالعه‌ی حجیم شدن یاخته‌ها و تقسیمات میتوزی یاخته‌ها، کلیدی برای روشن شدن چگونگی تبدیل

Archive of

www.SID.ir

رشد طولی استولون به رشد شعاعی است. این پژوهش نشان داد که اولین علائم ریزغده‌زایی کـه تـا حـد زیـادی هم‌زمان در مریستم‌های القاء شده دیده می‌شود نتیجه‌ی حجیم شـدن یاختـه‌هـای پارانـشیم پوسـتی در اثـر توسـعه واکوئول‌های آنها، و نیز، تقسیم یاخته‌ای در ناحیه‌ی پیرامون مغزی و در بخش‌های عمقـی مریـستم اسـت. کـه ایـن تغییرات حدود روز چهارم قابل مشاهده می‌باشد. طی نمو غده‌ها، چندین نوع بافت در تکثیر یاخته‌ها و حجیم شدن آنها دخالت دارند.

کاتر (۱۹۷۸) اعتقاد دارد که فرآیند غده‌زایی در جهت رو به رأس (آکروپتال) پیش می‌رود و هـر غـده صـرف نظر از موقعیتش بر روی گیاه، در ناحیه‌ی زیر رأسی، به‌ویژه در جوان‌ترین میانگره‌ی در حال طویل شدن، بنیانگذاری می‌گردد [۷]. مراحل اولیه‌ی بنیانگذاری غده، با حجیم شدن محور ساقه‌ای (در جهت رو به رأس) آغاز مـی‌گـردد. بـا شروع غده‌زایی فعالیت میتوزی و مریستم رأسی استولون کاهش می‌یابد [۲۱]. این دیدگاه در تضاد با نظر آرتیشواگر (۱۹۲۴) است که عقیده داشت، جوانه‌ها و میان‌گره‌های جدید، با شروع غده‌زایی به‌وجود نمی‌آیند [۷]. حجـیم شـدن شعاعی اولین میان‌گره، با انجام فعالیت میتوزی، به ویژه در بافت مغزی همراه است [۹، ۲۲]. در این پژوهش بررسی‌هـا نشان داد هنگامی‌که مریستم رأسی ریزغده‌های در حال تشکیل، بین دو تا چهار برگ را بـه‌وجـود مـی‌آورد فعالیـت تکثیری و برگ‌زایی آن کاسته می‌شود.

گوپال (۱۹۹۸) گزارش نمود که گیاهان کشت شده در شرایط تاریکی دائمی، دارای غده‌زایی سریع‌تـر هـستند اما زودتر دچار پیری می‌شوند. تعداد چشم‌ها نیز در هر ریزغده کاهش می‌یابد [۱۲].

یاخته‌های روپوست، سطح پشتی طرح‌های اولیه‌ی برگی، تمایز خود را بسیار سریع‌تر از یاخته‌هـای روپوسـت سطح شکمی آغاز کرده واکوئول‌دار می‌گردند، این وضعیت در یاخته‌های مزوفیلی در حال تشکیل نیز دیده می‌شـود. طی تمایز یاخته‌های روپوستی که با طویل شدن این یاخته‌ها همراه است واکوئول‌هایِ در حال حجیم شدن به سمت دیواره‌های خارجی و سطحی این یاخته‌ها جابه‌جا می‌شوند و مانند ساختاری محافظ هـسته را کـه در سـمت داخـل قرار گرفته است می‌پوشاند. بررسی‌های مرجع‌شناسی (تا حد امکان) وجود گزارش مستندی را نشان نداد.

دیدگاه سایر پژوهشگران در مورد بافت‌های محافظ روپوستی و منشا بافت برون پوستی نـشانگر آن اسـت کـه روپوست غده‌های جوان یک ردیفی و روزنه‌دار هستند، اما این لایه به سرعت توسط برون‌پوست جایگزین می‌شـود [۲۳، ۲۴، ۲۵]. فلوژن که بافت فلم برون‌پوسـتی را مـی‌سـازد، نتیجـه‌ی تقـسیمات پـری‌کلینـال در روپوسـت اسـت [۲۳]. روپوست غده‌های بسیار جوان، توسط یاخته‌های فلمی چوب‌پنبه‌ای شده جایگزین می‌شود که این یاخته‌هـا خـود از مریستم جانبی یا فلوژن منشأ می‌گیرند. فلوژن در ردیف یاخته‌های روپوستی بنیانگـذاری مـی‌شـود [۹، ۱۷، ۱۹]. ظـاهراً بافت فلودرمی (پوست پسین) از فلوژن نمو نمی‌یابد (۱۷). این دیدگاه در تضاد با نتایج این پـژوهش مـی‌باشـد کـه خود می‌تواند نتیجه‌ی تفاوت‌های ژنوتیپی رقم‌ها، یا تفاوت در شرایط کشت *Invitro* و *Invivo* باشد. برون پوست به‌عنوان لایه‌ای محافظ برای جلوگیری از کاهش سریع آب از یاخته‌های پارانشیمی (دیواره‌ی نازک) غده‌ی تخصصی شده است و مانع از نفوذ انواع عوامل بیماری‌زای موجود در خاک می‌شود [۲۶، ۲۷].

ریو (۱۹۷۰) بیان داشت که یاخته‌های پارانشیمی پوست از نظر اندازه و محتوای نشاسته‌ای نسبت به سایر بافت پارانشیمی غده، یکنواخت‌تر و همگن‌تر است. در کل، یاخته‌های پارانشیم پوستی، دارای دانه‌های نشاسته‌ای بیـشتری

Archive of SID

www.SID.ir

نسبت به پارانشیم مغزی هستند [۸]. آرتیشواگر (۱۹۱۵) متذکر شد که پوست، به‌علت اندازه کوچک‌تر یاخته‌ها و مقدار بیشتر دانه‌های نشاسته‌ای، متراکم‌تر از مغز می‌باشد [۷]. پژوهش‌های اولیه در این زمینه که افزایش اندازه یاخته‌ها همگام با افزایش اندازه‌ی غده‌ها می‌باشد از سوی ریو همکاران (۱۹۷۳) نیز مورد تأیید قرار گرفته و نشانگر اهمیت زیاد حجیم شدن یاخته‌ها در رشد غده‌ها می‌باشد [۸]. علت توقف تقسیم یاخته‌ای در بافت پارانشیم پوستی، فعالیت کوتاه مدت ناحیه‌ی پارانشیم درونی پوست (بخشی از بافت پیرامون مغزی) می‌باشد، به‌طوری‌که آثار این ناحیه تا روزهای دوازدهم در ریزغده‌ها قابل رویت است. در توافق با این دیدگاه برخی از پژوهشگران نیز اعلام کرده‌اند که هرچند پوست نقش قابل توجه‌ای در بافت استولون دارد، اما طی حجیم شدن غده‌ها، تعداد آنها بسیار کم افزایش می‌یابد، بنابر این، ساختاری فرعی در غده‌های بالغ می‌باشد [۷].

همان‌طور که ذکر شد در ریزغده‌های در حال حجیم شدن، الگوی رشد در یاخته‌های پارانشیم پوستی و مغزی با تغییر مکان واکوئول‌ها منجر به برتری رشد شعاعی بر رشد طولی می‌شود. در این زمینه پژوهش‌های فوجینو و همکاران (۱۹۹۵) نشان می‌دهد که اضافه کردن ساکارز ۸٪ به محیط کشت باعث توقف طویل شدن شاخه‌ها و متورم شدن ناحیه‌ی زیر رأسی هریک از شاخه‌ها می‌شود [۳۰]. متورم شدن این ناحیه در آغاز با حجیم شدن جانبی و به‌دنبال آن با تقسیمات پری‌کلینال آغاز می‌گردد. سپس یاخته‌های تقسیم شده به‌صورت جانبی حجیم می‌گردند. این تغییرات توأم با باز آرایش میکروتوبول‌های قشری است. در یاخته‌های ناحیه‌ی زیر رأسی شاخه‌های در حال طویل شدن میکروتوبول‌ها آرایش عرضی دارند. در یاخته‌های در حال حجیم شدن میکروتوبول‌ها، نسبت به محور شاخه‌ای آرایش طولی دارند. در مقابل، شاخه‌های جانبی که تحت تیمار GA_3 قرار گرفته‌اند طویل شده و در ناحیه‌ی زیر رأسی چنین شاخه‌هایی، یاخته‌ها دارای میکروتوبول‌هایی با آرایش عرضی هستند. این آرایش حتی در غلظت‌های بالای ساکارز (۸٪) نیز حفظ می‌شود [۲۸].

کاتر (۱۹۷۸) با مروری بر پراکنش تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها در مقالات ذکر نمود، با توجه به نقش بافت‌های مختلف در رشد غده، اتفاق نظری در این زمینه وجود ندارد. بخشی از این مشکل ناشی از برداشت متفاوت در ارتباط با تکوین بافتی و واژه‌شناختی آن است [۲]. به‌دنبال تورم شعاعی اولیه، افزایش قابل توجه در تعداد یاخته‌ها و متعاقب آن افزایش حجم یاخته‌ها منجر به حجیم شدن غده‌ها می‌شود. دخالت نسبی هر یک از این پارامترها در رشد غده‌ها موضوع مورد توجه بسیاری از پژوهشگران بوده است [۸] اما برداشتی یکسان در این زمینه دیده نمی‌شود. بخشی از این تفاوت می‌تواند، ناشی از تفاوت در رقم گیاه و بخشی از آن ناشی از خطاهای روش‌های اندازه‌گیری باشد. توافق عمومی وجود دارد که تغییرات در پارانشیم موجود در فلوئم داخلی (پارانشیم پیرامونی) و با اهمیت کمتر پارانشیم موجود در فلوئم خارجی در حجیم شدن غده نقش شاخصی دارند [۲۹]. در مجموع بررسی‌های منبع‌شناختی نشان می‌دهد که بسیاری از پژوهشگران بر نقش تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها در نمو غده‌ها اتفاق نظر را دارند [۴، ۷، ۲۱]. گزو و همکاران (۱۹۹۸) اعتقاد دارند که زمان و مکان تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها در مناطق مختلف استولون‌ها و غده‌های در حال نمو متفاوت است [۴]. هنگامی‌که رأس استولون‌ها شروع به متورم شدن می‌کند، تقسیمات عرضی یاخته‌ها در نوک استولون متوقف می‌شود [۴].

Archive of SID

www.SID.ir

هرچند تقسیمات طولی در مغز و پوست در دوره‌ی کوتاهی رخ می‌دهد، به نظر می‌رسد تعداد این تقسیمات کم نیست [۴] و بر خلاف نظر ریو و همکاران (۱۹۷۳) [۸]، اولین تقسیمات یاخته‌ای در مغز و پوست همیشه موازی با محور طولی استولون است و منجر به متورم شدن رأس غده در جهت عرضی می‌شود. هرچند این تقسیمات به‌طور تصادفی در ناحیه‌ی پیرامون مغزی در مراحل اولیه دیده شده است، رشد واقعی ناحیه‌ی پیرامونی، شامل تقسیمات یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها است. الگوی تقسیمات یاخته‌ای در ناحیه پیرامونی به‌طور تصادفی آرایش یافته، منجر به حجیم شدن غده‌ها در همه‌ی جهت‌ها می‌گردد. بنابر این، ناحیه‌ی پیرامون مغزی، بخش اصلی غده بالغ را می‌سازد [۴].

گزو و همکاران (۱۹۹۸) عقیده دارند ریخت‌شناختی و فرآیندهای تقسیم یاخته‌ای و حجیم شدن یاخته‌ها در غده‌های *Invitro* مشابه با مراحل اولیه‌ی تشکیل غده‌های *Invivo* است اما در شرایط *Invitro* با رسیدن غده‌ها به قطر ۰/۸ cm، رشد متوقف می‌گردد. مقایسه‌ی تشکیل غده در شرایط *Invitro* و *Invivo* به‌نظر می‌رسد که اندازه‌ی بزرگ‌تر غده‌های *Invivo* ناشی از تقسیمات یاخته‌ای و حجیم شدن بعدی آنها در ناحیه‌ی پیرامونی باشد که در غده‌های *Invitro* وجود ندارند [۴].

به اعتقاد یو و همکاران (۲۰۰۰) غلظت کلی قند به‌طور ثابت با رشد ریزغده‌ها کاهش می‌یابد. طی هفته‌ی ششم، رشد ریزغده‌ها رو به توقف می‌گذارد. بررسی تغییر غلظت قندها نشان می‌دهد که غلظت ساکارز طی ۲ هفته‌ی اول رشد ریزغده‌ها به شدت از $80\ gl^{-1}$ به $6\ gl^{-1}$ سقوط می‌کند. بخش عمده‌ای از ساکارز به گلوکز و فروکتوز تبدیل شده است. غلظت کلی قند طی هفته دوم تا پایان هفته‌ی ششم به کمتر از $20\ gl^{-1}$ می‌رسد. هیدرولیز ساکارز منجر به تولید مقدار یکسانی فروکتوز و گلوکز می‌شود. در هر حال، غلظت گلوکز همیشه پایین‌تر از غلظت فروکتوز می‌باشد که نشانگر جذب بیشتر گلوکز نسبت به فروکتوز در گیاه سیب‌زمینی است [۳۰]. به نظر می‌رسد طی دوره‌ی القایی بین رشد ریزغده‌ها و تغییر سطح قندها در محلول غذایی هم‌سویی وجود داشته باشد. این نتایج نشان می‌دهد که یکی از استراتژی‌های موفق برای جلوگیری از توقف رشد زود هنگام ریزغده‌ها، جلوگیری از و یا کاهش هیدرولیز ساکارز است که باعث بهبود کارآیی مصرف ساکارز در کشت ریزغده‌های سیب‌زمینی می‌گردد.

References:

1- Ebadi, M. Zarghami, R. Majd, A. *Journal of sciences*, Islamic Azad University, **43**, 3349 (2002).

2- Bradshaw, J. E., Mackay, G.R. *CAB International* (1999).

3- Jimenez, E *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **59**, 19 (2000).

4- Xu, X.Vreugdenhil,,D. *Journal of Experimental Botany*. **24**, 573 (1998).

5- Rezai, E, Soltani, A. Mashad Jahad Daneshgahi Publisher (1996).

6- Adam, M. J. *Ann. Appl. Biol.* **79**, 265 (1975).

7- Cutter, E. G., *Chapman & Hall*, 70 (1978).

8- Reeve, R. M., *Am. Potato J*., **50**, 49 (1973).

Archive of SID

www.SID.ir

9- Reeve, R. M., *Am. Potato J*., **46**, 361-373 (1969).

10- Lyshede, O. B., *Beitr. Biol. Pflanz*, 54, 467 (1978).

11- Murashige, T. Skoog, F. *Physiological Plantarum*, **15**, 473 (1962).

12- Gopal, J. *Plant Cell Report*, **17,** 10, 794, 17 (1998).

13- Hussey, G., Stacy, N. J., *Ann. Bot.*, **48**, 787 (1981).

14- Johansen, D. D., McGraw-Hill Book Company (1940).

15- Ruzin, S.E., Oxford University Press (1999).

16- Lawrence, C.H., Barker, w.g. *Am. Potato J*., **40**, 349 (1963).

17- Lyshede, O.B., *Yearbook of the royal veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark*, 68 (1977).

18- Pevalek, K. B., Berljak, J., *Biologia Bratislava*, 52, **4**, 553 (1997).

19- Desfontaines, L., *Proceeding of the 2nd International Symposium on Tuberous Legumes*., **17**, 399 (1998)

20- Kefi, S., *American journal of Potato Research*, **77**, (1), 57, 23 (1998).

21- Leshem, B., Clowes. F.A.l. *Ann. Bot*., **36**, 687 (1972).

22- Reeve, R.M., *Am. Potato J*., **47**, 148 (1970).

23- Esau.,K ., John Wily Publisher (1979).

24- Esau, K., John Wily Publisher (1983).

25- Fahn, A., Pegamon Press (1990).

26- Majd., A., and Ebadi, M., Morvarid Publisher (1996).

27- Majd, A., Ghorbanli Firozeh Publisher (1997).

28- Fujino, K., *Plant and cell Physiology*, **36** (5), 891, 20 (1995).

29- Lyshede, O. B., *Bot. Tidsskr*, **74**, 237 (1980).

30- Yu, W.C., *Plant Cell Reports*, **19**(4), 407 (2000).

Archive of SID

www.SID.ir