

مطالعه میکروسکوپی اندام‌زایی در زردآلوی رقم شصتمی یک*

جعفر حاجی‌لو^۱، وازگین گریگوریان^۲، علی ناظمیه^۲ و مصطفی ولیزاده^۳

چکیده

به منظور بررسی فرآیند تشکیل گل در زردآلو، طی مطالعات میکروسکوپی زمان گل‌آغازی و مراحل تکامل مرفولوژیک جوانه گل در شرایط اقلیمی ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور از اواسط مرداد سال ۱۳۷۶ از جوانه‌های اسپوره‌های زردآلوی رقم شصتمی یک به فاصله هر ده روز یکبار نمونه‌برداری شد. پس از حذف فلس‌های جوانه با استفاده از بینوکولار، جوانه‌ها در محلول FAA تثبیت شدند. در مراحل بعدی پس از آبخوبی، 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 تا اواخر مرداد، تشکیل کاسبرگ‌های جنینی از اواخر مرداد تا اوایل شهریور، تشکیل گلبرگ‌های جنینی از اوایل تا اواسط شهریور و تشکیل 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، گل‌آغازی.

مقدمه

مکانیسم عمل، پس از دریافت تحریکات خاص توسط جوانه، تشکیل گل در مریستم طرح‌ریزی می‌شود (۷). گمان می‌رود گل‌انگیزی زمینه 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^۴ پایین‌تر باشد و نیز در بین سایر هورمون‌ها از جمله اکسین، سائتوکینین و اتیلن تعادلی مطلوب جهت گل‌آغازی وجود داشته باشد (۱۰). رازیرا و مور (۱۴) واژه گل‌آغازی^۵ را به نخستین تغییرات قابل مشاهده مرفولوژیک در آپکس که دلالت بر آغاز تکامل گل دارد بکار بردند. برخی محققین تخت

بطور کلی گلدهی فزآیندی 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 جوانه 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 و آسپاراژین، در القاء گل کاملاً مؤثر می‌باشند (۱۳). بر اساس نظریه عده‌ای از محققین گل‌انگیزی در نتیجه تعادل هورمونی و بنا به نظریه عده دیگر براساس تغییرات توزیع مواد غذایی در داخل مریستم انتهایی به وقوع می‌پیوندد. بدون توجه به

*- 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 زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

4- Critical inhibitory levels

5- Initiation

بر روی اسپوزهای زردآلوی رقم شصتمی یک در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند واقع در کیلومتر ۲۵ 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^۲ F.A.A (ترکیبی از ۶ قسمت الکل اتیلیک مطلق، ۳ قسمت فرمالین ۳۷٪ و یک قسمت اسید استیک گلاسیال) تثبیت شدند (۳).

(ب) شستشو^۴، آبگیری^۵ و شفاف کردن^۶ 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٪ و الکل مطلق ۱۰۰٪ 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 ۱۰۰٪ در هر کدام به مدت یک روز نگهداری شدند (۱۱۳).

(ج) نفوذ دادن پارافین^۷ و قالب‌گیری^۸ نمونه‌ها: برای خارج کردن تولوئن از بافتها و نفوذ 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 پارافین‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ نگهداری شدند تا پارافین کاملاً به بافتها نفوذ نمایند. پس از طی این مراحل، در نهایت

مسطح شدن^۱ آپکس را نخستین علامت تشکیل گل به صورت جنینی می‌دانند (۱۵ و ۱۲۵). برخی دیگر عقیده دارند که حجیم شدن نقطه رشد بعنوان آغاز تمایز گل محسوب شده و یا نوعی تورم دریافت مریستمی حاکی از مراحل اولیه نمو گل می‌باشد (۱۴). زمان گل‌آغازی در گونه‌ها و نیز در ارقام مختلف متعلق به یک گونه متفاوت است (۱۲ و ۱). شرایط آب و هوایی، سن درخت، پایه و رقم زمان تمایز جوانه‌های گل را تحت 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، ۸). گل فرآیند تمایز جوانه گل برحسب گونه ممکن است از ۵۴ تا ۱۱۲ روز متغیر باشد. با وجود اینکه در گذشته به گل‌آغازی و مراحل اولیه مورفونز (ریخت‌زایی) جوانه‌های گل اهمیت زیادی داده می‌شد، با این 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 چرخه زندگی سالیانه درختان میوه بوده و مراقبتهای ویژه‌ای را می‌طلبد، در همین راستا این آزمایش به منظور مشخص نمودن زمان آغازش گل بصورت جنینی و تعیین 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 و روشها

مراحل مختلف تهیه برشهای میکروسکوپی از

نمونه‌ها به صورت زیر انجام گرفت:

(الف) نمونه‌گیری و تثبیت نمونه‌ها: از اواسط

تابستان ۱۳۷۶ نمونه برداری بر مبنای جوانه‌های موجود

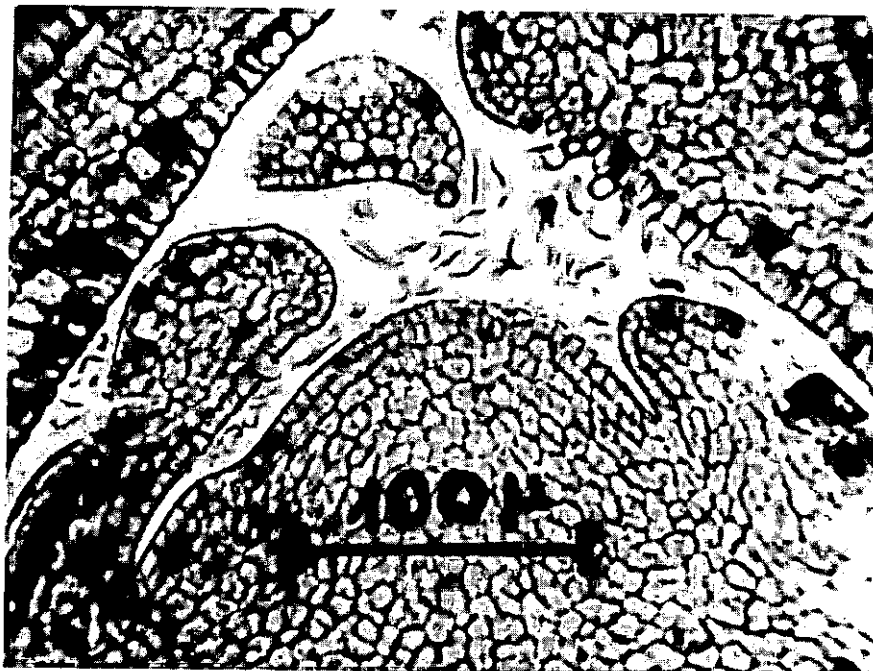
- | | |
|---------------------------------|--------------------------|
| 1- Flattening | 2- Fixation |
| 3- Formalin Acetic Acid Alcohol | |
| 4- Washing | 5- Dehydration |
| 6- Clearing | 7- Paraffin infiltration |
| 8- Embedding | |

نتایج و بحث

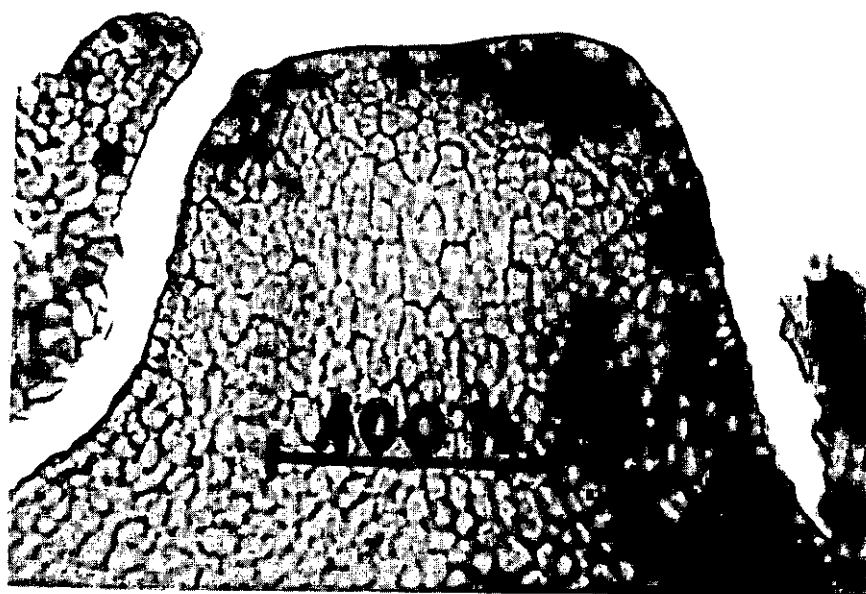
با توجه به اینکه نخستین علائم تمایز گل، بطور مشخص، ضخیم شدن آپکس می‌باشد (۱۴۵ و ۱۵)، لذا در برش‌های میکروسکوپی تخت شدن مریستم بعنوان اولین علائم تمایز مرفولوژیک جوانه گل مورد توجه قرار گرفت. شکل ۱ نشان می‌دهد که در اولین تاریخ نمونه برداری (۱۵ مردادماه) مریستم هنوز وضعیت گنبدی شکل دارد. برش‌های تهیه شده از نمونه برداری در تاریخ ۲۵ مرداد ماه نشان دادند که اولین علائم تمایز مرفولوژیک جوانه گل یعنی تخت شدن مریستم در فاصله زمانی ۱۵ تا ۲۵ مرداد اتفاق افتاد و بدین ترتیب نهنج گل آینده ساخته شد (شکل ۲). پس از این مرحله شکل‌گیری کاسبرگ‌های جنینی در دور تا دور مریستم تخت شده صورت می‌گیرد و با تشکیل کاسبرگ‌ها روی نهنج اولیه مشخص می‌شود که ساختمان گل در حال شکل‌گیری می‌باشد.

عمل قالب‌گیری صورت گرفت.

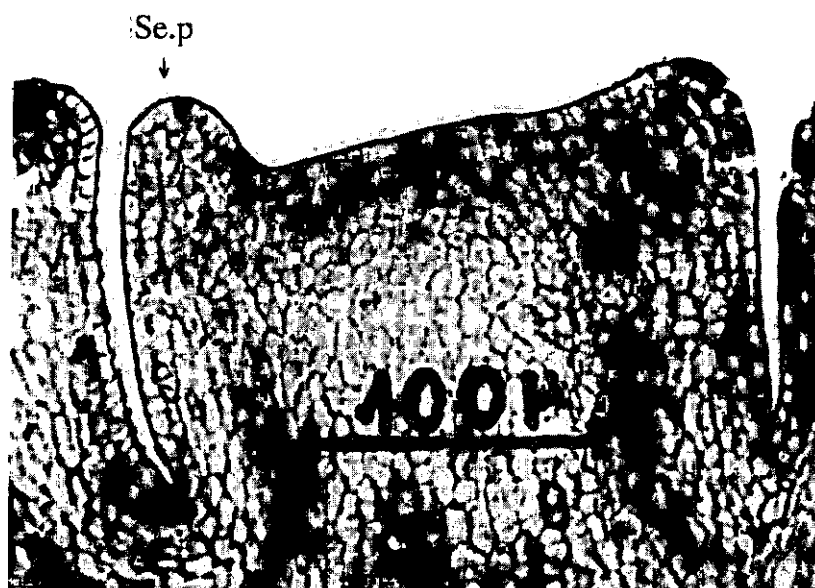
د) تهیه برش‌های میکروسکوپی: برش‌های میکروسکوپی با استفاده از دستگاه میکروتوم به ضخامت ۱۵ میکرون تهیه شدند. پس از انتخاب برش‌های مناسب با استفاده از بینوکولار، پهن کردن و چسباندن برش‌ها بر روی لام صورت گرفت. در نهایت، پس از خشک کردن، رنگ‌آمیزی صورت گرفت. برای این کار پس از خارج کردن پارافین از بافتها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



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



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

ماه تشکیل گردیدند.

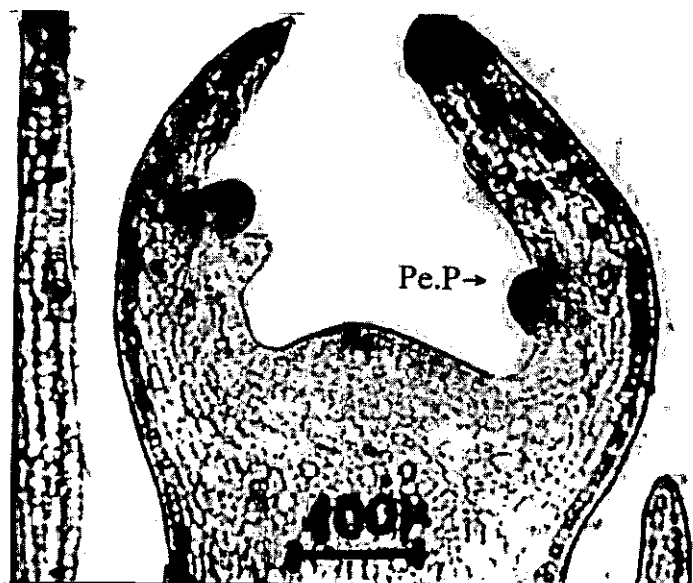
در ادامه تکامل اعضای مختلف گل، قسمت مرکزی مریستم به طرز خاصی برآمده شده و در نهایت تمایز مادگی آغاز می‌گردد (شکل‌های ۵ و ۴). بطور کلی تکامل مادگی تدریجی بوده و همزمان بانکامل آن پرچم‌ها نیز حجیم‌تر شده و در نهایت شکل‌گیری کلاله بر روی خامه و تشکیل بساکها صورت می‌گیرد. بدین ترتیب گل به صورت جنینی تشکیل می‌شود که پس از گذر از یک دوره با دمای‌های پایین و رفع نیاز سرمایی، در بهار سال بعد شکوفا خواهد شد. تشکیل تتراده‌ها و تکمیل خواب جوانه‌ها ممکن است همزمان صورت بگیرند. تحقیقات انجام شده بر روی زردآلو و بادام نشان داده‌اند که تشکیل تتراد و رفع 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 (۱۶ و ۹).

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 و کلاله نیز بر روی خامه شکل گرفته است (شکل‌های ۶ و ۷).

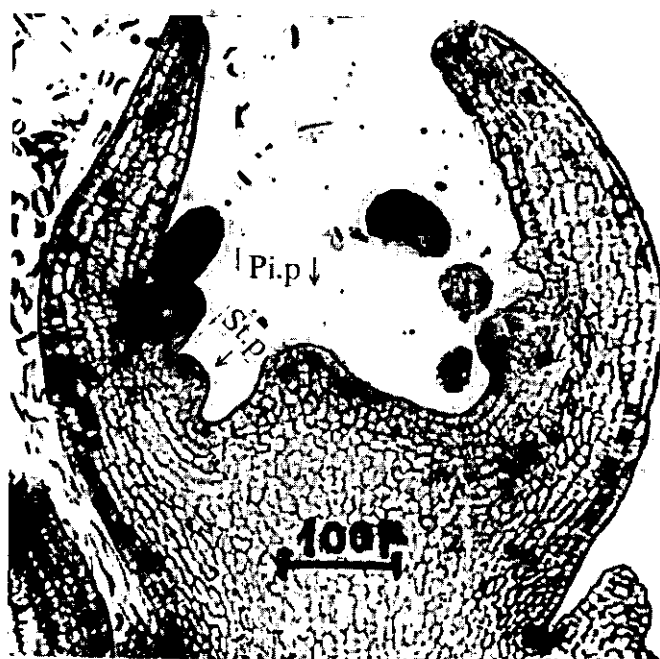
مطالعه برش‌های میکروسکوپی تهیه شده از جوانه‌ها در چهارم شهریور ماه نشان میدهد که تشکیل کاسبرگ‌های اولیه در شرایط اقلیمی ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند در فاصله زمانی بین اواخر مرداد تا اوایل شهریور اتفاق افتاد (شکل ۳).

پریمور دیای گلبرگ‌ها در قسمت داخلی به صورت متناوب در بین کاسبرگ‌های جنینی تشکیل می‌شوند. در ابتدا گلبرگ‌ها به صورت برجستگی‌های کوچک در کنار کاسبرگ‌ها ظاهر شده (شکل ۴) و سپس به مرور زمان و در طی مراحل بعدی گلبرگ‌ها بتدریج تکامل یافته و لایه 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.

پریمور دیای 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 با اولین پرچم‌ها و به طرف مرکز گل بوجود آمدند. مطالعه برش‌های میکروسکوپی مربوط به نمونه‌های بیست چهارم شهریور ماه (شکل ۵) نشان داد که پرچم‌های جنینی در اواسط تا اواخر شهریور



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



شکل ۵- برش میکروسکوپی از جوانه گل در پنجمین تاریخ نمونه برداری (اواخر شهریور)
St.p (Stamen primordium) = پرچمهای جنینی (Pistil primordium) = Pi.p شروع تمایز مادگی



شکل ۶- برش میکروسکوپی از جوانه گل در نهمین تاریخ نمونه برداری (اوایل آبان ماه)
(تشکیل مادگی به صورت ناقص)



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

و مبارزه با آفات و امراض در جهت حفظ برگ‌های سالم و شاداب 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 هسته دارها 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 و یا بیشتر می‌باشند در درخت باقی مانده و میوه‌بندی در آنها صورت می‌گیرد (۷).

در این مطالعه از زمان تخت شدن مریستم تا شکل‌گیری کامل گل به صورت جنینی حدود ۱۱ هفته بطول انجامید که با مطالعات وارینر و همکاران (۱۵) در هلو مطابقت دارد. این مدت زمان یکی از پدیده‌های حیاتی مهم در چرخه زندگی سالیانه درختان میوه محسوب می‌شود. اهمیت این موضوع بیشتر از آن جهت در خور توجه است که همه تلاش‌ها و مدیریت‌ها در یک میوه کاری باید به باردهی اقتصادی آن بیانجامد. لذا، با علم به مکانیسم و روند این پدیده حیاتی انجام عملیات باغبانی متناسب با فیزیولوژی نبات در این مرحله از جمله آبیاری، کوددهی

منابع مورد استفاده

- ۱- راحمی، مجید. ۱۳۷۰. گرده افشانی و تشکیل میوه (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز.
- ۲- عطری، مرتضی. ۱۳۷۵. ارگانوژنز (اندام زایی) و مورفوژنز (ریخت زایی) گیاهی. چاپ دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه.
- ۳- قاسمی، ایوبعلی. ۱۳۷۴. بررسی ارگانوژنز در سیب رقم گلدن دلپشن. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
- 4- Baker, D. 1977. Atlas of flowering plant structure. Longman Group.
- 5- Diaz D., 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, G.R. 1986. Ammonia, arginine, polyamines 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 Company.
- 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.