DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2012.6631

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۰، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۳۳-۱۲٤ (۱۳۹۱)

مطالعه رفتار میوزی و باروری دانه‌ی گرده در گیاه دارویی مشگک

لیلا عوبیدی[1*]، علی اشرف مهرابی[2]، منصور امیدی[3] و آتنا اولادزاد[4]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس‌ارشد، اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام
پست الکترونیک: Obeidi1360@yahoo.com
۲- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام
۳- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
٤- کارشناس‌ارشد، اصلاح نباتات، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۳/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۰۷

چکیده

مشگک با نام علمی *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss، بومی ایران بوده و به علت خواص دارویی فراوانی که دارد، در طب سنتی از اهمیت بالایی برخوردار است. در این تحقیق رفتار میوزی و نیز قدرت باروری دانهٔ گردهٔ این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی مراحل مختلف میوز و تعیین ناهنجاری‌های میوزی، گل‌آذین نارس گیاه مشگک جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که عدد پایهٔ کروموزومی در این گیاه n=۱۱ است که در مرحلهٔ دیاکینز به‌صورت بی‌والانت‌های حلقوی و میله‌ای جفت می‌شوند، هرچند که تعداد معدودی یونی‌والانت و کوادری‌والانت هم در این مرحله دیده شد. امّا در بررسی مراحل مختلف تقسیم میوزی گیاه مشگک، ناهنجاری‌های میوزی شامل چسبندگی کروموزومی، کروموزوم تأخیردار، مهاجرت زودهنگام کروموزوم‌ها، تودهٔ کروماتینی و میکرونوکلئوس در فراوانی کم مشاهده گردید. شاخص میوزی اندازه‌گیری و چهار سلول با اندازهٔ برابر در مرحلهٔ تتراد، طبیعی در نظر گرفته شد. قدرت باروری دانهٔ گرده نیز با توجه به رنگ‌پذیری آن ارزیابی گردید. دانه‌های گردهٔ رنگ شده با اندازهٔ طبیعی به طور بالقوه بارور و طبیعی در نظر گرفته شد. البتّه با توجه به شکل‌گیری بی‌والانت طبیعی در بیشتر سلول‌های مطالعه شده و بالا بودن شاخص میوزی، رفتار میوزی گونه طبیعی و رنگ‌پذیری دانهٔ گرده ۹۷ درصد ارزیابی شد.

واژه‌های کلیدی: مشگک (*Ducrosia anethifolia*)، میوز، گرده، ناهنجاری‌های میوزی، تتراد.

مقدمه

تیرهٔ بزرگ چتریان که بـه تیـرهٔ جعفـری نیـز معـروف است، شامل ۱۵۰ جنس و در حـدود ۳۰۰۰ گونـهٔ گیـاهی است که عمومـاً در منـاطق معتدلـه دو نیمکـره، بـه ویـژه نیمکرهٔ شمالی رویش دارنـد. وجـود گـل‌آذیـن چتـری و برگ‌های اغلب مرکب از بریدگی‌های باریک و نازک آنهـا را از سایر گیاهان به‌خوبی متمایز می‌سازد. به علت وجـود گل‌آذین چتری است که به تیره چتریان معروف هستند. در بین گیاهان این تیره گونه‌های فراوان دارویـی وجـود دارد که اغلب آنها مورد شناسایی مردم بوده و در طبابت مـورد

استفاده قرار می‌گیرند. مشگک با نام علمی *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss، گیاهی دارویی، دو ساله و از خانواده چتریان می‌باشد. این گیاه بومی ایران و قسمت‌هایی از افغانستان بوده و در طب سنتی به‌عنوان داروی سردرد و کمردرد استفاده می‌شود. در تحقیقات انجام شده، گونه‌های این جنس اثرات ضد میکروبی، برعلیه باکتری‌های گرم‌مثبت، مخمرها، برخی درماتوفیت‌ها، شل‌کنندهٔ عضلانی، دپرسانت CNS و تسکین‌دهنده را دارا می‌باشند و در تولید داروهای ضد افسردگی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. قسمت‌های هوایی گیاه مشگک حاوی اسانس بوده که به‌طور مؤثری از رشد قارچ‌های انگلی پوست انسان مانند کاندیدا آلبیکانس جلوگیری می‌نماید. در طب سنتی از پودر این گیاه در قنداق بچه‌ها برای جلوگیری از عفونت‌های قارچی و میکروبی، رفع کمردرد و سردرد و درمان التهابات جدار داخلی بینی و زکام مورد استفاده قرار می‌گیرد (Janssen *et al.*, 1984). جنس *Ducrosia* در ایران دارای سه گونه می‌باشد: ۱- *D. assaddi*، ۲- *D. flabellifolia* و ۳- *D. anethifolia*. علی‌رغم خواص دارویی فراوان گونه‌های متعلق به خانوادهٔ Apiaceae مطالعات سیتوژنتیکی انجام شده در این خانوادهٔ محدود بوده و اغلب به شمارش کروموزومی گیاهان Umbellifer شناخته شده مربوط می‌باشد (Iovene *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای که بر روی ۱۳جمعیت رازیانه صورت گرفته، ضمن اعلام تعداد کروموزوم پایه (n=۱۱) در تمامی جمعیت‌ها، حالت‌های بی‌والانت و کوادری‌والانت را نیز مشاهده کرده‌اند. طبق این گزارش تشکیل هر دو نوع بی‌والانت حلقوی و میله‌ای در مرحلهٔ دیاکینز در جمعیت‌ها مشاهده شده است. تعداد یونی‌والانت‌های حلقوی از ۷/۹۳ در جمعیت مربوط به همدان و اصفهان تا ٦/٨٦ در جمعیت مربوط به وصف متغیر می‌باشد. تعداد یونی‌والانت‌ها از ۱/٤۳ در جمعیت مربوط به بیدهند تا ۰/۷۱ در جمعیت مربوط به تفرش و نیز تعداد کوادری‌والانت‌ها از ۱/۱٤ در جمعیت‌های مربوط به وصف و قائن تا ۰/۷۹ در همدان متغیر بوده است (Sheidaei *et al.*, 2007). بنابر مطالعات انجام شده بر روی دو جنس Seseli و Oenanthe از خانوادهٔ چتریان، عدد کروموزومی سلول‌های مادری گرده در جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف این دو جنس از تنوع بالایی برخوردار بوده است. اما در جنس Oenanthe عدد کروموزومی متداول n=۱۱ می‌باشد. درضمن همبستگی بالایی میان فراوانی پایین کیاسما و ناهنجاری‌های میوزی و ناباروری دانهٔ گرده نیز دیده شده است (Hore, 1981). در *Seseli montanum* L نیز ۱۱ بی‌والانت و یک یونی والانت گزارش شده است (Moor, 1971). طبق گزارشی که بر روی تعدادی از جمعیت‌های گونهٔ Himalayan از جنس Torilis متعلق به خانوادهٔ چتریان صورت گرفته است، کروموزوم‌ها تنها به‌صورت بی‌والانت جفت شده و در هیچ‌یک کوادری‌والانت مشاهده نگردیده است. میانگین فراوانی بی‌والانت‌های حلقوی در مرحلهٔ متافاز ۱ میوز از ۱/٦۰ تا ۳ و میانگین فراوانی بی‌والانت‌های میله‌ای از ۳/٦۷ تا ۱۵ متغیر بوده است. طبق همین گزارش، تغییرات درصد باروری دانهٔ گرده از ۷۰/٤۳ تا ۷۸/۵۲ گزارش شده است (Hamal & Koul, 1987). مطالعات میوزی انجام شده بر روی ۷ گونه از گیاه Eryngium نیز حاکی از آن بوده که تمامی گونه‌های مورد بررسی رفتار میوزی نرمال و رنگ‌پذیری بالای ۸۰ درصد داشته‌اند. رنگ‌پذیری دانهٔ گرده از ۸۰ درصد در *E. eburneum* تا ۹۳ درصد در

E. pandanifolium و *E. horridum* متغیر بوده است (Oleary *et al.*, 2004).

از آنجاکه اطلاعات حاصل از بررسی رفتار میوزی و باروری دانهٔ گرده به دلیل توصیف ژرم‌پلاسم، تعیین قابلیت تغییرپذیری ژنتیکی، کمک به مطالعهٔ تنوع زیست شناختی و روند تکاملی یک گونه از اهمیت بالایی برخوردار بوده و می‌تواند اساس برنامه‌های به‌نژادی محسوب شود (Silva *et al.*, 2004). با توجّه به بررسی‌های انجام شده در زمینهٔ مصارف دارویی و صنعتی گیاه مشگک، و از آنجا که گیاه مشگک بومی ایران بوده و در بیشتر نقاط ایران پراکنش داشته است، می‌توان گفت که این گیاه می‌تواند به‌عنوان یک گیاه ارزشمند در مطالعات و پژوهش‌های اصلاحی، سیتوژنتیکی، دارویی و صنعتی مطرح باشد. نظر به اینکه بررسی و مطالعات سیتوژنتیکی این گیاه برای اولین بار مطرح شده است، نتایج بدست آمده می‌تواند گام نخست و اساسی جهت ادامهٔ تحقیقات و پژوهش‌های ذکر شده و نیز مطالعه و اجرای برنامه‌های اصلاحی جهت اهلی سازی و اصلاح این گیاه باشد. بنابراین در این تحقیق به بررسی سیتوژنتیکی گیاه مشگک با اهداف زیر پرداخته شد. ۱- تعیین سطح پلوئیدی ۲- مطالعهٔ کروموزوم‌های هسته‌ای در تقسیم میوز (سلول‌های مادری گرده) ۳- بررسی ناهنجاری‌های رفتاری میوزی ٤- قدرت باروری دانهٔ گرده با روش توان رنگ‌پذیری دانهٔ گرده.

مواد و روشها

الف) رفتار میوزی: گل‌آذین نارس گیاه مشگک در مراحل مختلف رشدی، از اوایل اردیبهشت ماه تا اوایل خرداد ماه، از باغ گیاهشناسی پژوهشکدهٔ گیاهان دارویی، واقع در ۷۵ کیلومتری شهرستان قزوین، جمع‌آوری و بلافاصله به داخل محلول تثبیت‌کنندهٔ کارنوی (اتانول: کلروفورم: اسیداستیک به نسبت ۱:۳:٦) انتقال داده شدند و به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق تثبیت گردیدند. پس از خارج کردن گل‌آذین و شستشو با آب مقطر، در الکل اتیلیک ۷۰ درصد در دمای ٤ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور رنگ‌آمیزی مناسب از محلول رنگی استوکارمن ۲ درصد استفاده شد.

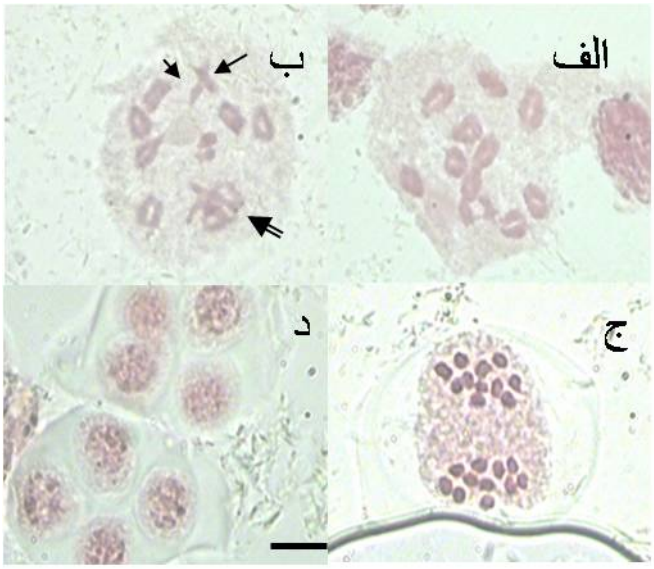
به دلیل کوچک بودن چترها و عدم دسترسی آسان به بساک گیاه مشگک، ابتدا دو تا سه عدد از چترهای میانی با پنس جدا شده و به همراه یک قطره اسید استیک ٤٥ درصد و یک قطره رنگ استوکارمن ۲ درصد بر روی لام قرار داده شدند. سپس محتویات آنها با فشار جزئی پنس خارج شد و درون اسید و رنگ شناور گردید. سپس پوستهٔ بساک و قسمت‌های اضافی حذف گردیدند. در مرحلهٔ بعد یک لامل روی نمونه قرار داده شد و بین دو لایهٔ کاغذ صافی با فشار جزئی عمل اسکواش انجام شد و رنگ اضافی جذب کاغذ شد. در نهایت اسلاید آماده شده برای مدت چند ثانیه روی حرارت چراغ الکلی قرار گرفت تا رنگ استوکارمن بهتر جذب پرچم‌ها شود.

تصویربرداری لام‌ها به وسیله سیستم مونیتورینگ متصل به فتومیکروسکوپ انجام شد. تعداد ۲۰۰ سلول مادری گرده (PMC) جهت تعیین مطالعهٔ رفتار میوزی و تعیین میزان ناهنجاری‌های کروموزومی در مراحل مختلف تقسیم میوز مورد بررسی قرار گرفتند. درصد تترادهای گردهٔ طبیعی در ۱۰ اسلاید جهت تعیین شاخص میوزی شمارش و ثبت گردید (Love, 1951). شاخص میوزی به‌عنوان معیاری برای تعیین رفتار میوزی منظم می‌باشد. توزیع فراوانی میانگین ناهنجاری‌ها نیز با استفاده از t استیودنت، مورد آزمون قرار گرفت.

ب) رنگ‌آمیزی دانهٔ گرده: در این مرحله گل‌آذین‌های رسیدهٔ گیاه مشگک در اواسط خرداد ماه، از باغ گیاهشناسی پژوهشکدهٔ گیاهان دارویی جمع‌آوری و مراحل تثبیت و نگهداری همانطورکه شرح داده شد، گردید. به منظور تعیین قدرت باروری دانهٔ گرده به روش کلاسیک، ۳۰۰-۵۰۰ دانهٔ گرده با محلول رنگی استواورسئین ۱ درصد رنگ‌آمیزی و فراوانی دانه‌های گردهٔ رنگ شده با اندازهٔ طبیعی ثبت شد.

نتایج

بررسی رفتار میوزی: تمامی مراحل میوز نرمال در گیاه مشگک مشاهده و ثبت گردید. با بررسی سلول‌ها در مرحلهٔ دیاکینز ٦٨/١٨ درصد کروموزوم‌ها به شکل جفت کروموزوم‌های حلقوی و ٣٠/٣٦ درصد آنها به صورت جفت کروموزوهای میله‌ای جفت می‌شوند (جدول ۱). همچنین به‌رغم دیپلوئید بودن گونه، ١/٤٥ درصد کروموزوم‌ها در مرحلهٔ دیاکینز به شکل یونی‌والانت و کوادری‌والانت مشاهده شدند (شکل ۱). با توجه به نحوهٔ جفت شدن کروموزوم‌ها در مرحلهٔ دیاکینز، گیاه مشگک دیپلوئید و با عدد پایهٔ کروموزومی n=۱۱ می‌باشد. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود در آنافاز ۱ میوز ۱۱ یونی‌والنت به‌طور مساوی به قطبین رفته و میوز به‌طور نرمال (۱۱:۱۱) انجام شده است.



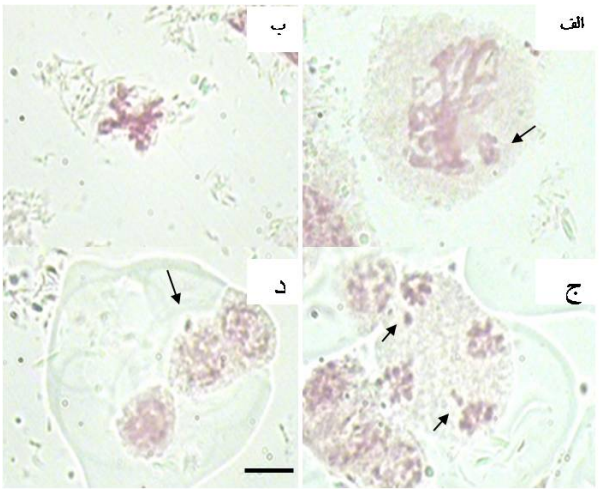
شکل ۱- مراحل میوز نرمال: الف) مرحلهٔ دیاکینز با ۱۱ بی‌والانت حلقوی. ب) مرحلهٔ دیاکینز با ۲ یونی والانت (فلش توپر) و ۱ کوادری والانت (فلش توخالی) .ج) آنافاز ۱ (۱۱:۱۱). د) مرحلهٔ تلوفاز ۲ و تشکیل تتراد حلقوی (طول خط مقیاس برابر با ۱۰ میکرومتر است).

جدول ۱- نحوه‌ی جفت‌شدگی کروموزوم‌ها در گیاه دارویی مشگک

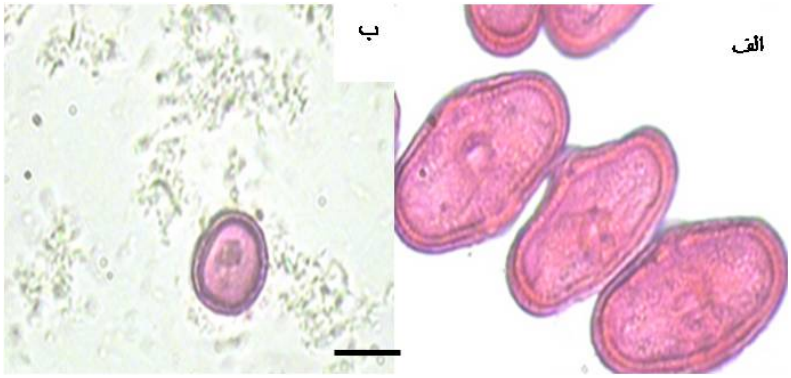
درصد یونی والانت و کوادری والانت	درصد بی‌والانت میله‌ای	درصد بی‌والانت حلقوی	
١/٤٥	٣٠/٣٦	٦٨/١٨	مرحلهٔ دیاکینز

ناهنجاری‌های میوزی: در بررسی مراحل مختلف تقسیم میوز گیاه مشگک، ناهنجاری‌های میوزی مشاهده شده شامل ۳/٦ درصد چسبندگی کروموزومی (پل کروموزومی) در مراحل آنافاز و تلوفاز، ۸ درصد کروموزوم تأخیردار (لگارد) در مراحل آنافاز و تلوفاز، ۲/۳ درصد مهاجرت زودهنگام کروموزوم‌ها در مرحلهٔ پروفاز، متافاز و تودهٔ کروماتینی، می‌باشد. میکرونوکلئوس نیز در مراحل مختلف میوزی در گیاه مشگک مشاهده شد، اما تنها کمتر از ۲ درصد تترادهای مشگک حاوی میکرونوکلئوس بودند. از دیگر ناهنجاری‌های مشاهده شده تشکیل تریاد در انتهای تلوفاز ۲ با فراوانی حدود ۵ درصد بود (شکل ۲).

برای تعیین شاخص میوزی تترادهای حاوی چهار سلول برابر طبیعی در نظر گرفته می‌شود (Love, 1951). در نمونه‌های مشگک مورد بررسی شاخص میوزی ۹۳ درصد بود. با توجه به اینکه گیاهانی که دارای شاخص میوزی بالای ۹۰ درصد هستند از لحاظ سیتوژنتیکی دارای پایداری می‌باشند و رفتار میوزی نرمال و طبیعی به‌رغم مشاهدهٔ ناهنجاری‌های میوزی در گیاه مشگک تأیید می‌گردد. نتایج آزمون t نیز همانطور که در جدول ۳ آورده شده است، وجود ناهنجاری‌های دیده شده را استثناء و قابل اغماض نشان داده است و فرض صفر صحیح (میانگین هنجاری‌ها مساوی با صفر) نیز با حدود اطمینان برآورد شده پذیرفته می‌شود.



شکل ۲- ناهنجاری‌های میوزی: الف) تودهٔ کروماتینی اضافی (فلش). ب) آنافاز ۱ میوز به‌همراه چسبندگی شدید کروموزومی. ج) انتهای آنافاز۲ میوز به‌همراه ۲ کروموزوم تأخیردار (فلش). د) تلوفاز ۲ میوز و تشکیل تریاد به همراه میکرونوکلئوس متصل به دیوارهٔ سلولی (فلش) (طول خط مقیاس برابر با ۱۰ میکرومتر است).



شکل ۳- رنگ‌آمیزی دانهٔ گرده: الف) دانهٔ گرده با اندازهٔ طبیعی و رنگ‌پذیری کامل. ب) دانهٔ گردهٔ نابارور با اندازهٔ کوچک (میکروگرده) (طول خط مقیاس برابر با ۱۰ میکرومتر است).

جدول ۲- درصد ناهنجاری‌های میوزی در گیاه دارویی مشگک
(۲۰۰ سلول مادری گرده در ۱۰ اسلاید شمارش شده است)

تریاد (٪)	میکرونوکلئوس (٪)	تودهٔ کروماتینی (٪)	مهاجرت زودهنگام (٪)	چسبندگی کروموزومی (٪)
۵	۲	۲/۳	۸	۳/٦

جدول ۳- نتایج تجزیه ناهنجاری‌های میوزی در گیاه دارویی مشگک

ناهنجاری‌های میوزی	درجه آزادی	میانگین	انحراف معیار	خطای استاندارد میانگین	آزمون تی	احتمال خطا
چسبندگی کروموزومی	۹	۰/۹	۰/۸۷٦	۰/۲۷۷	۳/۲۵	۰/۰۰۵۰
مهاجرت زودهنگام	۹	۱/۸	۱/۷۵۱	۰/۵۵٤	۳/۲۵	۰/۰۰۵۰
تودهٔ کروماتینی	۹	۰/۷	۰/۸۲۳	۰/۲٦۰	۲/٦۹	۰/۰۱۲
میکرونوکلئوس	۹	۰/٦	۰/۸٤۳	۰/۲٦۷	۲/۲۵	۰/۰۲۵
تریاد	۹	۱/۲	۱/۳۱۷	۰/٤۱٦	۲/۸۸	۰/۰۰۹۱

تعیین قدرت باروری دانهٔ گرده: درصد رنگ‌پذیری دانهٔ گرده در نمونهٔ مورد بررسی ۹۷ درصد بود. اما در میان دانه‌های گردهٔ بررسی شده گرده‌هایی با اندازهٔ کوچک‌تر از معمول نیز با فراوانی ۰/٦ درصد مشاهده شد (شکل ۳). از آنجا که دانه‌های گرده با اندازه کوچک نمی‌توانند به‌طور طبیعی در تقسیمات میتوزی مشارکت نمایند، نابارور خواهند بود.

بحث

در این بررسی عدد پایهٔ کروموزومی در گیاه مشگک مانند اکثریت گیاهان متعلق به خانوادهٔ چتریان n=۱۱ مشاهده شد. که در مرحلهٔ دیاکینز به صورت میله‌ای و حلقوی جفت می‌شوند و گویای دیپلوئید بودن گونه است. هرچند که تعداد محدودی یونی‌والانت و کوادری‌والانت هم در مرحلهٔ دیاکینز دیده شده که وقوع و

شکل‌گیری کوادری‌والانت‌ها می‌تواند به علت جابجایی هتروزیگوت‌ها باشد (Sheidaei *et al.*, 2007). از آنجاکه یونی‌والانت‌ها معمولا" در تقسیم اول به‌طور طبیعی از هم جدا نشده‌اند، بنابراین فراوانی یونی‌والانت‌ها در دیاکینز و متافاز ۱ در بسیاری از گونه‌های زراعی به‌عنوان معیار اندازه‌گیری انحرافات میوزی به‌کار گرفته شده است (Scoles & Kaltsikes, 1974).

در بررسی مراحل مختلف گیاه مشگک، ناهنجاری‌های میوزی شامل چسبندگی کروموزومی (پل کروموزومی) در مراحل آنافاز و تلوفاز، کروموزوم تأخیردار (لگارد) در مراحل آنافاز و تلوفاز، مهاجرت زودهنگام کروموزوم‌ها در مرحلهٔ پروفاز و متافاز، تودهٔ کروماتینی، میکرونوکلئوس در مرحلهٔپروفاز و تلوفاز و تتراد غیر طبیعی (تری‌یاد) مشاهده گردید.

مطالعات در گیاهان متفاوت نشان داده است که کاهش تولید دانه با اختلالات میوزی همبستگی مستقیم دارد و تمامی اختلالات رفتاری کروموزوم‌ها تقسیم میوزی طبیعی و در نتیجه باروری دانهٔ گرده را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Pagliarini, 2000, Pagliarini, 1990).

در نمونه‌های گیاه مشگک ۲/۳ درصد سلول‌های مرحلهٔ متافاز، مهاجرت زودرس کروموزومی نشان دادند. مهاجرت زودرس کروموزوم‌ها به قطبین می‌تواند ناشی از وجود کروموزوم‌های یونی‌والانت در انتهای پروفاز ۱ یا پایان یافتن زودرس کیاسما در دیاکینز یا متافاز ۱ باشد. این یونی‌والانت‌ها ممکن است از عدم کراسینگ‌آور در پاکیتن یا از موتانت‌های سیناپتیکی حاصل شوند (Bione *et al.*, 2000). البتّه طبق مطالعات انجام شده مهاجرت زودرس یونی‌والانت‌ها ناهنجاری بسیار رایجی در بین گیاهان می‌باشد (Defani *et al.*, 1995, Pagliarini, 1990, Pagliarini, 2000).

۳/٦ درصد سلول‌های مرحلهٔ آنافاز و تلوفاز پل کروموزومی تشکیل دادند. چسبندگی کروموزومی در اثر عوامل ژنتیکی یا محیطی مانند اشعهٔ ایکس، اشعهٔ گاما، حشره کش‌ها و عناصر شیمیایی موجود در خاک ایجاد می‌گردد. علت اولیه و اساس بیوشیمیایی چسبندگی کروموزومی هنوز ناشناخته می‌باشد (Bione *et al.*, 2000). کروموزوم‌های چسبنده می‌تواند نتیجهٔ عملکرد ناقص یک یا دو نوع از پروتئین‌های غیرهیستونی اختصاصی درگیر در سازمان‌دهی کروموزومی باشد که برای تفکیک کروماتید ضروری می‌باشند. تغییر عملکرد این پروتئین‌ها به‌دلیل موتاسیون در ژن‌های ساختاری کدکنندهٔ آنها یا به‌وسیلهٔ عمل موتاژن بر پروتئین‌ها رخ می‌دهد (Gaulden, 1987). چسبندگی کروموزومی به‌طور فیزیولوژیکی بر رفتار کروموزوم‌ها در طی تقسیم سلولی تأثیر می‌گذارد و درنتیجه باروری دانهٔ گرده را به‌طور جزئی و یا حتی کلی تحت تأثیر قرار می‌دهد (Pagliarini, 2000, Pagliarini, 1990).

فراوانی سلول‌های مرحلهٔ آنافاز و تلوفاز که دارای کروموزوم تأخیردار بودند ۸ درصد بود. کیاسما مسئول حفظ بی‌والانت‌ها است که منجر به تفکیک کروموزومی طبیعی می‌گردد (Bione *et al.*, 2000). بنابراین هرگونه نقص در تشکیل کیاسما و وقوع کراسینگ‌آور می‌تواند باعث تشکیل کروموزوم تأخیردار گردد. کروموزوم‌های تأخیری طی مراحل بعدی میوز یا از بین می‌روند و یا به‌طور تصادفی به قطبین مهاجرت می‌کنند. درنتیجه انتظار می‌رود که تعداد و اندازهٔ کروموزوم‌های دانه‌های گردهٔ بدست آمده متغیر باشد. به این ترتیب با مشاهدهٔ کروموزوم‌های تأخیری می‌توان انتظار ایجاد دانه‌های گرده‌ای با تعداد کمتر و یا بیشتر از ۱۱ کروموزوم را داشت.

گیاهان دارای بی‌والانت تأخیردار تترادهایی تشکیل می‌دهند که به‌طور کامل سازماندهی نشده‌اند.

میکرونوکلئوس در مراحل مختلف میوزی در گیاه مشگک رویت شد اما تنها کمتر از ۲ درصد تترادهای مشگک حاوی میکرونوکلئوس بودند. این موضوع بیانگر این است که کروموزوم‌ها در طی مراحل مختلف به هستهٔ اصلی ملحق می‌شوند. تشکیل یونی‌والانت و کروموزوم تأخیردار عاملی است که باعث تشکیل میکرونوکلئوس در مرحلهٔ تلوفاز ۱ می‌گردد که به‌طور نرمال تا مرحلهٔ تتراد باقی خواهند ماند (Koduru & Rao, 1981, Bione *et al.*, 2000). میکرونوکلئوس عاملی است که موجب حذف کروموزوم درون گونه‌ای می‌شود (Tjio & Levan, 1950)، و نیز میکرونوکلئوس‌ها می‌توانند موجب تشکیل میکروسلول‌هایی شوند که دانه‌های گردهٔ عقیم را به‌وجود می‌آورند (Techio *et al.*,. 2006).

یکی دیگر از ناهنجاری‌های مشاهده شده در تعداد کمی از نمونه‌ها تودهٔ کروماتینی بود. این تودهٔ کروماتینی اضافی، با کروماتین اصلی سلول مادری گرده جفت نشده و به‌صورت جدا در سلول باقی‌می‌ماند. این پدیده در نتیجهٔ انتقالات کروموزومی ایجاد می‌گردد (Singhal & Kumar, 2008). سرنوشت این تودهٔ اضافی کروماتینی مشخص نشده است اما احتمالا" می‌تواند منشأ شکل‌گیری میکرونوکلئوس و یا میکروگرده‌ها باشد (Singhal & Kumar, 1993). در انتهای تلوفاز ۲ حدود ۵ درصد تترادها به صورت تری‌یاد مشاهده شده‌اند، که تشکیل تری‌یاد در انتهای تلوفاز ۲ در حقیقت می‌تواند نشان‌دهندهٔ تشکیل سلول‌های کاهش نیافته باشد (Sheidaei *et al.*, 2007). روش‌های متفاوتی برای تعیین دانهٔ گردهٔ ۲n کروموزومی مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از رایج‌ترین این روش‌ها تعیین دانهٔ گردهٔ کاهش نیافته از طریق اندازه دانهٔ گرده می‌باشد. البتّه دانه‌هایی با اندازه بزرگ‌تر از اندازهٔ طبیعی به علت ناهنجاری‌های میوزی به‌طور بالقوه می‌توانند دارای کروموزوم‌های کاهش نیافته (۲n) باشند (Sheidaei *et al.*, 2007).

ناهنجاری‌های میوزی در طی مراحل مختلف میوزی، رفتار طبیعی بسیاری از گونه‌ها بوده، بنابراین معیار اصلی برای تعیین ثبات میوزی گونه‌ها شاخص میوزی می‌باشد (Koduru & Rao, 1981). در نمونه‌های مشگک مورد بررسی شاخص میوزی ۹۳ درصد بود. با توجه به اینکه گیاهانی که دارای شاخص میوزی بالای ۹۰ درصد هستند از لحاظ سیتوژنتیکی دارای پایداری می‌باشند (Love, 1951)، رفتار میوزی نرمال و طبیعی به‌رغم مشاهدهٔ ناهنجاری‌های میوزی در گیاه مشگک تأیید می‌گردد. با وجود ناهنجاری‌های ناچیز میوزی درصد رنگ‌پذیری دانهٔ گرده در نمونهٔ مورد بررسی ۹۷ درصد بود، که خود تأییدی بر پایداری رفتار میوزی گیاه مشگک می‌باشد. اما در میان دانه‌های گردهٔ مشاهده شده گرده‌هایی با اندازهٔ کوچک‌تر از معمول نیز با فراوانی ۰/٦ درصد دیده شد. از آنجا که دانه‌های گرده با اندازه کوچک، نمی‌توانند وارد تقسیمات میتوزی طبیعی شوند، نابارور خواهند بود (Song & Li, 2009).

در این مطالعه ویژگی‌های رفتاری میوزی در گیاه مشگک که بومی ایران است، مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که این گونه از نظر رفتاری در مراحل مختلف میوز و نیز طریقهٔ جفت شدن کروموزوم‌ها به سایر گونه‌های این خانواده که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته‌اند شباهت دارد. نتایج این پژوهش نشان داد به‌رغم اینکه ناهنجاری‌های میوزی در بیشتر مراحل تقسیم میوزی

گیاه مشگک مشاهده گردیده، اما با توجه به نتایج حاصل از بررسی شاخص میوزی و نیز نتایج به‌دست آمده از آزمون t استیودنت و درصد رنگ‌پذیری دانه‌ی گرده، رفتار میوزی نرمال برای گونه‌ی مورد بررسی گزارش می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Bione, N.C.P., Pagliarini, M.S. and Ferraz de Toledo J.F., 2000. Meiotic behavior of several soybean varieties. Genetics and Molecular Biology, 23: 623-631.
- Consolaro, M.E.L. and Pagliarini, M.S., 1996. Spontaneous chromosome stickiness in microsporocytes of *Centella asiatica* L. Urban (Umbelliferae). Cytologia, 61: 57-61.
- Consolaro, M.E.L., Pagliarini, M.S. and Chaves, L.J., 1996. Meiotic behavior, pollen fertility and seed production in Brazilian populations of *Centella asiatica* (L.) Urban (Umbelliferae). Cytologia, 61: 375-381.
- Defani-Scoarize, M.A., Pagliarini, M.S. and Aguiar, C.G., 1995. Causes of partial male sterility in an inbred maize line. Cytologia, 60: 311-318.
- Defani-Scoarize, M.A., Pagliarini, M.S. and Aguiar, C.G., 1995. Evaluation of meiotic behavior in double-cross maize hybrids and their parents. Maydica, 40: 319-324.
- Gaulden, M.E., 1987. Hypothesis: Some mutagens directly alter specific chromosomal proteins thus produce chromosome stickiness. Mutagenisis, 2: 357-365.
- Hamal, I.A. and Koul, A.K., 1987. Cytotaxonomic analysis of the Himalayan species of the genus ToriKs (Apiaceae). Plant Systematics and Evolution, 159: 185-192.
- Hore, A., 1981. Cytotypes within the family Umbelliferae with special reference to the genera *Seseli L.* and *Oenanthe L.* (subtribe Seselinae). Genetica, 56: 205 211.
- Janssen, A., Scheffer, J., Baerheim, S. and Aynechi, Y., 1984. The Essential oil of *Ducrosia anethifolia (DC.) Boiss*. chemicall composition and Antimicrobial Activity. Fharm Weekbl Science, 6:157-160.
- Koduru, P.R.K. and Rao, M.K., 1981. Cytogenetics of synaptic mutants in higher plants. Theoretical and Applied Genetics, 59: 197-214.
- Love, R.M., 1951. Varietal differences in meiotic chromosome behavior of Brazilian wheats. Agronomy J., 43:2-6.
- Iovene, M., Grzebelus, E., Carputo, D., Jiang, J. and Simon, P.W., 2008. Major cytogenetic landmarks and karyotype analysis in *Daucus carota* and other Apiaceae. American Journal of Botany, 95: 793–804.
- Moore, D.M., 1971. Chromosome studies in the Umbelliferae. In V. H.Heywood [Ed.]. The Biology and Chemistry of the Umbelliferae, 233 –255.
- O´Leary, N., Calvino, C.I., Greizerstein, E., Martinez, S. and Poggio, L., 2004. Further cytogenetical studies on diploid and polyploid species of *Eryngium L*. (Saniculoideae, Apiaceae) from Argentina. Hereditas, 140, 129-133.
- Pagliarini, M.S., 1990. Meiotic behavior and pollen fertility in *Aptenia cordifolia* (Aizoaceae). Caryologia, 43: 157-162.
- Paglıarını, M.S., 2000. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. Genetics and Molecular Biology, 23: 997-1002.
- Scoles, G.J. and Kaltsikes, P.J., 1974. The cytology and cytogenetics of Triticale. Z. Pflanzenzuchtg, 73: 13-43.
- Shafei Alavijeh, M., 2010. Study of Light and Hormone Effect on Plant Suspension Culture of Moshgak (*Ducrosia anethifolia*) The Thesis Submitted for The Degree of Master of Science, University of Zabol, Iran.
- Sheidaei, M., Kalhor-Home, N. and Poorneydanei, A., 2007. Cytogenetic study of some populations of *Foeniculum vulgare* (Umbelliferae) in Iran. Caryologia, 3: 257-261.
- Singhal, V.K. and Kumar, P.K., 1993. Cytomixis during microsporogenesis in the diploid and tetraploid cytotypes of *Withania somnifera* (L.) Dunal, 1852 (Solanaceae). Comparative Cytogenetic, 2: 85-92.
- Singhal, V.K. and Kumar, P.K., 2008. Impact of cytomixis on meiosis, pollen viability and pollen size in wild populations of Himalayan poppy (*Meconopsis aculeata* Royle). Bioscience, 33: 371–380.
- Silva, C.P., Santos, D.G.D., Santos, E.K. and Zanettini, M.H.B., 2004. Chromosome numbers, meiotic behavior, and pollen viability of species of *Vesea* and *Achiea* genera (Bromeliaceae) native to Rio Grande do sul Brazil. American Journal of Botany, 91: 804–807.
- Song, Z.Q. and Li, X.F., 2009. Cytomixis in Pollen Mother Cells of *Salvia miltiorrhiza*. Caryologia, 62: 220-235.
- Techio, V.H., Davide, L.C. and Pereira, A.V., 2006. Meiosis in elephant grass (*Pennisetum purpureum*), pearl millet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae, Poales) and their interspecific hybrids. Genetics and Molecular Biology, 29:353-362.
- Tjio, J.H. and Levan, A., 1950. The use of oxyquinoline in chromosome analysis. Anales Estacion Exper Aula Dei (Spain), 2: 21-46.

Meiotic behavior and pollen viability of *Ducrosia anethifolia (*DC)

L. Obeidi[1*], A.A. Mehrabi[2], M. Omidi[3] and A. Oladzad[4]

1*- Corresponding author, M.Sc., Department of Agriculture and Plant Breeding, Ilam University, Ilam, I.R.Iran.
Email: Obeidi1360@yahoo.com
2- Assist., Prof., Plant Molecular Breeding, Department of Agriculture and Plant Breeding, Ilam University, Ilam, I.R.Iran.
3- Prof., Department of Agriculture and Plant Breeding, University of Tehran, Karaj, I.R.Iran.
4- M.Sc., Institute of Medicinal Plant, Karaj, I.R.Iran.

Received: 28.05.2011 Accepted: 25.02.2012

Abstract

Ducrosia anethifolia (DC) Boiss as a medicinal plant is a biennial herb of the Apiaceae family. Its origin is Iran and possessed n=11 (2n = 2x = 22) chromosome number forming mainly both rod and ring bivalents with some quadrivalents and univalents. A variety of abnormal chromosomal behaviors including chromosomal stickiness, bridge, laggards, micronucleus and precocious chromosome migration were observed, albeit with low frequency. Meiotic index was estimated. Tetrads with 4 equal-sized cells were considered normal and any deviation as abnormal. Pollen fertility was estimated by stainability. Few meiotic abnormalities were observed; as a consequence, high pollen fertility was concluded. Well-filled pollen grains with stained nuclei were regarded as fertile while shriveled, smaller microspores and unstained pollen were counted as sterile. This study reveals that meiosis in the species is normal, with high meiotic index and regular bivalent formation in most of the studied cells. Furthermore, the pollen stainability was 97% in this case.

Key words: *Ducrosia anethifolia*, Meiosis, Pollen fertility.