

مطالعه رفتار میوزی و باروری دانه گرده در زیره سبز (*Cuminum cyminum*) تحت شرایط تنش خشکی و نانوذره دی اکسید تیتانیوم

Study of meiotic behavior and fertility of pollen seed in Cumin (*Cuminum cyminum*) under drought stress and titanium dioxide nanoparticles

سیدمحمد مهدی مرتضویان^{۱*}، سمیرا بکان^۱، سیداحمد سادات نوری^۱، مریم نوروزی^۲

۱- به ترتیب دانشیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد، گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۲- استادیار، گروه باغبانی پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

Mortazavian SMM^{1*}, Bakan S¹, Sadat Noori SA¹, Norouzi M²

1- Assistant Professor, Graduated MSc Student, Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding Science, College of Aburaihan University of Tehran, Tehran-Pakdasht, Iran

2- Assistant Professor, Department of Horticulture, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mortazavian@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۱/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۱۸)

چکیده

زیره سبز با نام علمی *Cuminum cyminum* و متعلق به خانواده *Apiaceae* به دلیل خواص دارویی فراوانی که دارد، در طب سنتی از اهمیت بالایی برخوردار است. تنش خشکی می تواند سبب کاهش عملکرد دانه در زیره سبز به خصوص در کشت بهاره شود. در مطالعات گذشته نقش مثبت نانوذره دی اکسید تیتانیوم بر عملکرد دانه زیره سبز نشان داده شده است. در این تحقیق برای اولین بار رفتار میوزی و نیز قدرت باروری دانه گرده این گیاه تحت شرایط تنش خشکی آخر فصل (مرحله زایشی) و اعمال نانوذره دی اکسید تیتانیوم برای بررسی بیشتر از دیدگاه ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی مراحل مختلف میوزی و تعیین ناهنجاری های میوزی، گل آذین نارس گیاه زیره که تحت تنش خشکی و سطوح مختلف نانوذره قرار گرفته بود، جمع آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. انواع ناهنجاری ها شامل چسبندگی، توده ای شدن کروموزوم ها، کروموزوم سازمان نیافته، پل آنافازی، کروموزوم تأخیردار، کروموزوم پیشرو، تاخیر آنافازی، میکرونوکلئوس، سه قطبی، سین سابت و عدم تفرق صحیح کروموزومی در تمامی سطوح مورد بررسی قرار گرفت. قدرت باروری دانه گرده نیز با توجه به اندازه آن ارزیابی شد. دانه های گرده رنگ شده با اندازه طبیعی، به طور بالقوه بارور و طبیعی در نظر گرفته شد. بیشترین کاهش درصد باروری به میزان ۱۳/۳۳ درصد در شرایط غلظت ۰/۰۳ درصد نانوذره به همراه تنش خشکی و کمترین آن به میزان ۰/۶۹ درصد در نمونه تحت غلظت ۰/۰۱۵ درصد نانوذره به همراه تنش خشکی مشاهده شد. نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده اثر متقابل تنش خشکی و نانوذره بر صفات میوزی بوده و به طور کلی تأثیر مثبت نانوذره بر افزایش عملکرد بیشتر به صورت غیرمستقیم بوده و به طور مستقیم باروری دانه گرده را کاهش می دهد.

واژه های کلیدی

تقسیم کاهشی

تنش غیرزنده

گیاه دارویی

ناهنجاری کروموزومی

مقدمه

تیره بزرگ چتریان که به تیره جعفری نیز معروف است، شامل ۱۵۰ جنس و در حدود ۳۰۰۰ گونه گیاهی است که عموماً در مناطق معتدله دو نیمکره، به ویژه نیمکره شمالی رویش دارند (Kafi et al. 2006). وجود گل آذین چتری و برگ های اغلب مرکب از بریدگی های باریک و نازک، آن ها را از سایر گیاهان به خوبی متمایز می سازد. این خانواده، گیاهان دارویی متعدد و مهمی را شامل می شود که زیره سبز یکی از مهم ترین آن هاست. گیاه زیره سبز که به عنوان یکی از سردمداران گیاهان ادویه ای نیز شناخته می شود بعد از فلفل دومین گیاه ادویه ای مهم در دنیاست (Mortazavian et al. 2018). اساس موجود در بذور این گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد نفخ، ضد باکتری و ضد عفونی کننده می باشد (Kafi et al. 2006). هرچند بیشتر مناطق کشت زیره سبز ایران مربوط به مناطق خشک و نیمه خشک است؛ تحقیقات مختلف نشان دهنده کاهش عملکرد دانه این گیاه در صورت مواجهه با تنش کم آبی بخصوص در مراحل گلدهی است (Safari et al. 2017). امروزه به کارگیری روش های نوین در کاهش اثرات مخرب تنش خشکی در دست تحقیق و بررسی اولیه است. نانوذرات دی اکسید تیتانیوم از جمله موادی است که در مطالعات مختلف اثر التیام بخش آن بر تنش خشکی از طریق تقویت زنجیره انتقال الکترون، افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردکتاز، کاهش رادیکال های آزاد اکسیژن و افزایش آنزیم های آنتی اکسیدان گزارش شده و در زیره سبز مورد بررسی قرار گرفته است (Zheng et al. 2007; Mansouri et al. 2017). علی رغم خواص دارویی فراوان گونه های متعلق به خانواده Apiaceae مطالعات سیتوژنتیکی انجام شده در این خانواده محدود بوده و اغلب به شمارش کروموزومی گیاهان شناخته شده مربوط است (Ioven et al. 2008). در مطالعه ای که بر روی زیره سیاه تحت تأثیر نانوذره سولفیدمس و کادمیوم صورت گرفت، ضمن مشاهده تغییرات سیتوژنتیک، مشخص شد که نانوذرات دارای اثرات جهش زایی مشابه با جهش زا های متعارف مانند تابش گاما و متیل سولفونات می باشند. در برخی مطالعات گزارش شده تیمارهای نانوذرات، میزان تشکیل بذر را به دلیل اختلال در فرایندهای نموی بذر کاهش می دهد (Kumbhakar et al. 2016).

(Obeidi et al. 2013) در بررسی مراحل مختلف تقسیم میوزی گیاه مشکک (*Ducrosia anethifolia*)، ناهنجاری های میوزی شامل چسبندگی کروموزومی، کروموزوم تأخیردار، مهاجرت زودهنگام کروموزوم ها، توده ی کروماتینی و میکرونوکلئوس را با فراوانی کم مشاهده کردند. با توجه به شکل گیری بی والانت طبیعی در بیشتر سلول های مطالعه شده و بالا بودن شاخص میوزی، رفتار میوزی گونه طبیعی و رنگ پذیری دانه گرده ۹۷ درصد ارزیابی شد (Obeidi et al. 2013). در مطالعه ای که بر روی ۱۳ جمعیت رازیانه صورت گرفت، ضمن اعلام تعداد کروموزوم پایه ($x=11$) در تمامی جمعیت ها، حالت های بی والانت و کوادری والانت نیز مشاهده شد. طبق این گزارش، تشکیل هر دو نوع بی والانت حلقوی و میله ای در مرحله دیاکینز در جمعیت ها مشاهده شد (Sheidai et al. 2007). بنابراین مطالعات انجام شده بر روی دو جنس *Oenanthe* و *Seseli* از خانواده چتریان همبستگی بالایی میان فراوانی پایین کیاسما و ناهنجاری های میوزی و ناباروری دانه گرده مشاهده شد (Hore 1981). اثر مثبت نانوذره دی اکسید تیتانیوم مبنی بر کاهش اثر منفی تنش خشکی در گیاه زیره سبز به اثبات رسیده است (Mansouri et al. 2017). با توجه به اثر تنش خشکی و نانوذره دی اکسید تیتانیوم بر خصوصیات مورفولوژی و عملکرد و اجزای عملکرد زیره سبز، لازم است تا اثر آن ها از منظر ژنتیکی بر تفکیک کروموزوم ها و نحوه برهمکنش آن ها طی مراحل تقسیم سلولی مشخص شود تا در برنامه ریزی های به نژادی و توصیه های بعدی دقت بیشتری لحاظ شود. لذا این پژوهش برای نخستین بار به منظور بررسی نحوه تأثیر تنش خشکی و نانوذره دی اکسید تیتانیوم در سطح کروموزومی بر مراحل تقسیم میوز زیره سبز و باروری دانه گرده صورت گرفت.

مواد و روش ها

آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور محلول پاشی نانوذرات دی-اکسید تیتانیوم (۰/۰۳، ۰/۱۵ درصد و شاهد) و تیمار آبی (آبیاری نرمال در حد FC و تنش ۴۰ درصد در مرحله آغاز رشد زایشی) بر روی اکوتیپ منتخب درمیان خراسان جنوبی در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار و در مزرعه پژوهشی

ناهنجاری‌های کروموزومی (شامل چسبندگی، توده‌ای شدن، کروموزوم سازمان‌نیافته، پل آنافازی، کروموزوم تاخیردار، کروموزوم پیشرو، تاخیر آنافازی، میکرونوکلئوس، سه قطبی، سین سایت و عدم تفرق صحیح کروموزومی) و نحوه تشکیل اتصالات کروموزومی در مرحله دیاکینز میوز مورد مطالعه قرار گرفت. میانگین وقایع سلولی نظیر فراوانی تشکیل کیاسمای انتهایی، کیاسمای کل و میانگین توزیع انواع کیاسما در پروفاز میوز یک مورد بررسی قرار گرفت. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطوح احتمال پنج درصد و یک درصد به کمک نرم‌افزار Minitab (ver.18) مورد بررسی قرار گرفت.

در این مرحله گل‌آذین‌های رسیده گیاه زیره سبز (۰/۹ تا ۱/۳ سانتی‌متر) در اواخر اردیبهشت‌ماه، جمع‌آوری و مراحل تثبیت و نگهداری طبق روش فوق دنبال شد. به‌منظور تعیین قدرت باروری دانه گرده به روش کلاسیک، ۳۰۰-۵۰۰ دانه گرده به مدت یک ساعت در محلول رنگی استوارسین یک درصد و روغن گلیسرول به نسبت ۱:۳، رنگ آمیزی و فراوانی دانه‌های گرده رنگ شده با اندازه‌طبیعی ثبت شد (Obeidi et al. 2013). اندازه‌گیری قطر دانه گرده به کمک نرم‌افزار image tools version 2.0 بر روی ۱۰۰ دانه گرده به‌صورت تصادفی انجام شد و باروری دانه گرده مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج و بحث

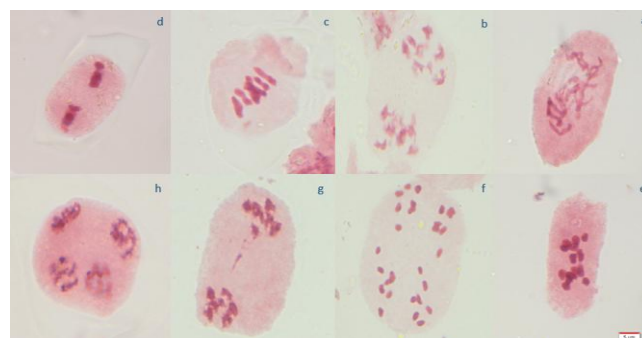
بررسی رفتار کروموزومی و ناهنجاری‌های میوزی در گیاهان شاهد (آبیاری نرمال، بدون اعمال نانوذره) تمامی مراحل میوز به‌صورت نرمال مشاهده و ثبت شد (شکل ۱). در این مطالعه عدد پایه کروموزومی در گیاه زیره سبز مانند اکثر گیاهان متعلق به خانواده چتریان $n=x=7$ مشاهده شد؛ هرچند در خانواده چتریان تعداد کروموزوم‌های پایه ۷، ۹، ۱۰، ۱۱، $x=7$ مشاهده شده است. در کلیه سلول‌های مورد بررسی اعم از سلول‌های شاهد و تحت تیمار، در مرحله دیاکینز، انواع بی‌والنت (حلقوی و میله‌ای)، یونی‌والنت و کوادری‌والنت با فراوانی‌های مختلف مشاهده شد. تجزیه واریانس منابع تغییر حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد بین منابع تغییر به‌جز متغیرهای هگزوالنت، کیاسمای میانی و فراوانی

پردیس ابوریحان دانشگاه تهران واقع در پاکدشت اجرا شد. اکوتیپ مورد آزمایش براساس مطالعات قبلی (Mansouri et al. 2017) از میان اکوتیپ‌های موجود در بانک ژن پردیس ابوریحان دانشگاه تهران تهیه شد. باتوجه به نیاز آبی زیره سبز، آبیاری تا زمان اعمال تنش آبی با فاصله‌ی ۱۲ روز یک بار انجام گرفت. تنش گیاه همزمان با شروع دوره‌ی گلدهی گیاه اعمال گردید. زمان محلول‌پاشی نانوذرات دی‌اکسیدتیتانیوم نیز دو روز قبل از اعمال تنش خشکی انجام شد. در کرت‌های شاهد محلول‌پاشی با آب عاری از نانوذره صورت گرفت. باتوجه به نتایج مطالعات گذشته محلول‌پاشی نانوذرات فقط در یک مرحله صورت گرفت. از هر کرت آزمایشی حدود ۵۰ گل آذین نارس گیاه زیره سبز در سه مرحله مختلف رشدی شامل اندازه گل کوچک، متوسط و بزرگ (به‌ترتیب صفر تا ۰/۵، ۰/۵ تا ۰/۹ و ۰/۹ تا ۱/۳ سانتی‌متر)، از اوایل اردیبهشت ماه تا اواخر اردیبهشت ماه، جمع‌آوری و بلافاصله به داخل محلول تثبیت کننده کارنوی (اتانول: اسید استیک به نسبت ۳:۱) انتقال داده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق تثبیت و پس از خارج کردن گل‌آذین و شستشو با آب مقطر، در الکل ۷۰ درصد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Obeidi et al. 2013). به‌منظور رنگ‌آمیزی، از محلول رنگی استوارسین ۱ درصد استفاده شد. به‌دلیل کوچک بودن چترها و عدم دسترسی آسان به بساک گیاه زیره، ابتدا تعدادی از چترها با پنس درون پتری‌دیش قرار گرفته و مقداری الکل ۷۰ درصد روی آن ریخته شد. سپس زیر دستگاه استریومیکروسکوپ قرار گرفته و با استفاده از سوزن تشریح و اسکالپل بساک‌ها جدا شده و روی لام قرار داده شد. سپس یک قطره رنگ استوارسین اضافه شد و پوسته بساک و قسمت‌های اضافی حذف شدند. در مرحله بعد لام روی نمونه قرار داده شد و بین دولایه‌ی کاغذ صافی با فشار جزئی عمل اسکواش انجام شد تا رنگ اضافی جذب کاغذ شود. در نهایت اسلاید آماده شده برای مدت چند ثانیه روی حرارت چراغ الکلی قرارگرفت تا رنگ استوارسین بهتر جذب سلول‌های میوزی شود. تصویربرداری لام‌ها به‌وسیله سیستم مانیتورینگ متصل به فتومیکروسکوپ (Olympus BX51) انجام گرفت. در مجموع، تعداد ۲۰۰ سلول میوزی (میوسیت) جهت تعیین مطالعه رفتار میوزی و تعیین میزان

al. 2017). با توجه به اینکه در مطالعه حاضر این سطح از تنش منجر به افزایش کیاسمای میانی به میزان ۶۰ درصد نسبت به شاهد (آبیاری نرمال بدون اعمال نانوذره) شده است، شاید بتوان به این نتیجه رسید که اعمال تنش مذکور بر نوترکیبی ژنهای واقع در این ناحیه مؤثر بوده و سبب افزایش عملکرد شده است.

چسبندگی کروموزوم^۱ها به یکدیگر با ماهیت ناشناخته ممکن است از ایجاد انتهای چسبناک بین دو یا چند کروموزوم و تشکیل پلهای چسبناک در آنافاز ناشی شود (Shabrangi et al. 2010). هر چه تراکم کروموزومها بیشتر باشد تشخیص چسبندگی آنها آسانتر است؛ لذا در متافاز I و II بیشتر چسبندگیها قابل تشخیصاند. بسته به شدت چسبندگی، انواع چسبندگی از چسبندگی ساده دو کروموزوم به یکدیگر تا توده‌ای شدن و درهم رفتگی همگی کروموزومها و یا کشیدگی و بدریختی قابل بررسی است (Shabrangi et al. 2010). براساس نتایج تجزیه واریانس، برهمکنش متقابل تنش آبی در نانوذره برای کلیه صفات به جز کروموزوم سازمان نیافته، کروموزوم تاخیردار و کروموزوم پیشرو در آنافاز I به شدت معنی دار بود (جدول ۳). کمترین و بیشترین فراوانی ناهنجاری چسبندگی کروموزوم به ترتیب در مرحله متافاز I و II در شرایط تنش خشکی و اعمال نانوذره با غلظت ۰/۰۱۵ مشاهده شد (جدول ۴). به همین ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی ناهنجاری چسبندگی کروموزوم به ترتیب در مرحله متافاز I و II در شرایط آبیاری نرمال و اعمال نانوذره با غلظت ۰/۰۱۵ مشاهده شد. به عبارت دیگر در سطح ثابت غلظت ۰/۰۱۵ نانوذره فراوانی این ناهنجاری در شرایط تنش خشکی در متافاز II افزایشی (۱۲ درصد بیشتر نسبت به شاهد) و در متافاز I کاهش (۵/۵ درصد کمتر نسبت به شاهد) است (شکل ۲ و جدول ۴).

کیاسمای کل بود (جدول ۱). بین تیمارهای مختلف نانوذره هگزوالنتها فقط در نمونه‌های سطح ۰/۰۳ درصد نانوذره و تنش خشکی، سطح ۰/۰۱۵ درصد نانوذره و عدم تنش خشکی و تیمار شاهد (آبیاری نرمال و بدون اعمال نانوذره) مشاهده شد (جدول ۲). فراوانی کیاسمای میانی و کیاسمای کل تحت تاثیر نانوذره قرار گرفته و تنها برهمکنش معنی دار بین نانوذره و تیمار آبی در مورد فراوانی وقوع هگزوالنتها مشاهده شد (جدول ۱).



شکل ۱- مراحل میوز نرمال در نمونه شاهد در زیره سبز:

a- پروفاز II - b- پروفاز II - c- متافاز II - d- متافاز I - e- آنافاز II - f- آنافاز I - g- آنافاز II - h- تلوفاز II

میزان کیاسمای میانی با اعمال نانوذره افزایش یافت. با افزایش غلظت نانوذره فراوانی کیاسمای میانی و کیاسمای کل افزایش یافت به نحوی که بیشترین درصد افزایش میزان کیاسمای میانی و کیاسمای کل نسبت به شاهد (به ترتیب ۵۷ درصد و ۱۱ درصد) در سطح ۰/۰۳ درصد نانوذره مشاهده شد (جدول ۲). در مجموع تاثیر نانوذره بر تغییر فراوانی کیاسماها بیشتر از تاثیر تنش خشکی بود. گاندهی در سال ۱۹۹۴ اعلام داشت دما تاثیر مستقیمی بر کاهش میزان تشکیل کیاسما در دو جنس *Clataria* دارد. (Shabrangi et al. 2010) نیز به کاهش قابل توجه در میزان کیاسمای انتهایی در کلزا و ذرت تحت تاثیر میدانهای مغناطیسی اشاره کردند. فراوانی کیاسما به صورت ژنتیکی کنترل می شود. وقوع کیاسمای میانی می تواند نوترکیبی ژنهای میانی را افزایش داده و بر افزایش تنوع ژنتیکی مؤثر باشد (Fadaei et al. 2010). براساس مطالعه منصفی و همکاران با تیمارهای مشابه، سطح ۰/۰۱۵ درصد از نانوذره به همراه تنش خشکی منجر به افزایش ۱۶ درصدی عملکرد دانه نسبت به شاهد شده است (Mansouri et

¹ Stickiness

جدول ۱- تجزیه واریانس (مقادیر p) جفت شدگی کروموزوم‌ها در مرحله دیاکینز در زیره سبز

Source منابع تغییر	DF درجه آزادی	Ring Bivalent بی‌والنت حلقوی	Rod Bivalent بی‌والنت میله‌ای	Univalent یونی‌والنت	Quadrivalent کوادریتی‌والنت	Hexavalant هگزوالنت	Intercalary Chiasma کیاسمای میانی	Terminal Chiasma کیاسمای انتهایی	Total Chiasma کیاسمای کل
rep تکرار	29	0.236	0.545	0.747	0.578	0.000	0.497	0.622	0.125
Water تیمار آبی	1	0.159	0.186	0.498	0.526	0.584	0.105	0.966	0.344
Nanoparticle تیمار نانوذره	2	0.420	0.640	0.500	0.364	0.720	<u>0.018</u>	0.223	<u>0.023</u>
Water*Nano برهمکنش	2	0.204	0.962	0.547	0.787	<u>0.035</u>	0.081	0.734	0.501

موارد معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد در داخل جدول با اعداد زیر خط‌دار مشخص شده‌اند.

جدول ۲- جفت‌شدگی کروموزوم‌ها در مرحله دیاکینز در زیره سبز

کیاسمای کل	کیاسمای انتهایی	کیاسمای میانی	هگزوالنت	کوادریتی‌والنت	یونی‌والنت	بی‌والنت میله‌ای	بی‌والنت حلقوی	نوع جفت شدن تیمارهای نانوذره (درصد)	تیمار آبی
9.51±0.40	8.24±0.24	1.68±0.11	0	0.51±0.10	0.96±0.25	3.41±0.32	2.06±0.25	0.03	نرمال
10.17±0.49	8.48±0.39	1.69±0.21	0.06±0.04	0.55±0.12	1.24±0.37	3.10±0.28	2.00±0.32	0.03	تنش
9.46±0.32	8.46±0.29	1.00±0.07	0.06±0.02	0.57±0.13	1.33±0.24	3.60±0.25	1.56±0.20	0.015	نرمال
9.93±0.31	8.23±0.21	1.70±0.21	0	0.43±0.09	1.13±0.26	3.23±0.23	2.33±0.23	0.015	تنش
8.76±0.30	7.88±0.24	0.88±0.16	0	0.36±0.12	1.72±0.35	3.48±0.30	1.92±0.23	بدون نانوذره	تنش
8.96±0.40	7.89±0.31	1.06±0.22	0.03±0.01	0.41±0.09	1.24±0.28	3.65±0.29	1.65±0.23	بدون نانوذره	نرمال

جدول ۳- تجزیه واریانس (مقادیر p) ناهنجاری‌های کروموزومی در مرحله دیاکینز در زیره سبز.

Source	DF	Stickiness %	Stickiness %	Clumping %	Clumping %	Disorganized % chromosome	Stickiness %	Laggard chromosome %	Laggard chromosome %
منابع تغییر	درجه آزادی	چسبندگی	چسبندگی	توده‌ای شدن	توده‌ای شدن	کروموزوم سازمان نیافته	چسبندگی	کروموزوم تاخیردار	کروموزوم تاخیردار
		متافاز I	متافاز II	متافاز I	متافاز II	متافاز I	آنافاز I	آنافاز I	آنافاز II
rep	4	0.433	0.893	0.265	0.370	0.772	0.265	0.955	0.766
تکرار									
Water	1	<u>0.001</u>	0.459	0.095	<u>0.000</u>	0.425	<u>0.000</u>	0.759	<u>0.000</u>
تیمار آبی									
Nanoparticle	2	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.023</u>	<u>0.000</u>	0.300	<u>0.000</u>	0.886	<u>0.000</u>
تیمار نانوذره									
Water*Nano	2	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.001</u>	<u>0.000</u>	0.214	<u>0.000</u>	0.204	<u>0.000</u>
برهمکنش									

ادامه جدول ۳- تجزیه واریانس (مقادیر p) ناهنجاری‌های کروموزومی در مرحله دیاکینز در زیره سبز.

Source	DF	Leader chromosome%	Leader chromosome%	Delays anaphase%	Micronucleus%	Tripolar%	Syncyte%	Nondisjunction chromosome%	% Pollen fertility
منابع تغییر	درجه آزادی	کروموزوم پیشرو	کروموزوم پیشرو	فاز تاخیری	میکرونوکلئوس	سه قطبی	سین سایت	عدم تفرق صحیح کروموزوم	دانه گرده بارور
		آنافاز I	آنافاز II	آنافاز II	تلوفاز II				
rep	4	0.854	0.86	0.937	0.698	0.514	0.227	0.430	0.714
تکرار									
Water	1	0.557	<u>0.04</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	0.249	<u>0.001</u>	0.173
تیمار آبی									
Nanoparticle	2	0.970	<u>0.00</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.014</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>
تیمار نانوذره									
Water*Nano	2	0.102	<u>0.04</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.000</u>	<u>0.001</u>
برهمکنش									

موارد معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد در داخل جدول با اعداد زیرخط‌دار مشخص شده‌اند.

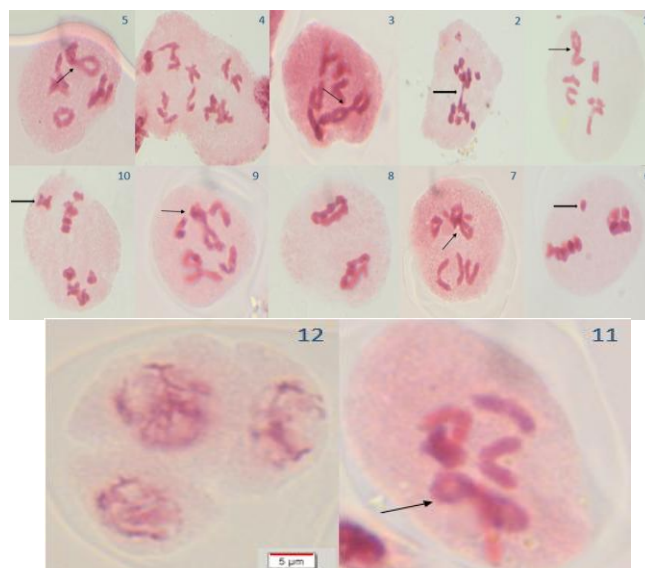
جدول ۴- ناهنجاری کروموزوم‌ها در مراحل تقسیم میوز در زیره سبز

	Pairing type نوع جفت شدن	Stickiness % چسبندگی	Stickiness % چسبندگی	Laggard chromosome % کروموزوم تاخیردار	Leader chromosome % کروموزوم پیشرو	Micronucleus % میکرونوکلئوس	Delays anaphase % فاز تاخیری	Nondisjunction chromosome % عدم تفرق صحیح کروموزوم	Tripolar % سه قطبی	Syncyte % سین سایت	Pollen % fertility دانه گرده بارور
Water treatment تیمار آبی	Nanoparticle treatment (percentage) تیمارهای نانوذره (درصد)	I متافاز	II متافاز	II آنافاز	II آنافاز	II تلوفاز	II آنافاز				
Normal نرمال	0.03 ۰/۰۳	2.71 ^{bc}	10.06 ^b	2.17 ^b	1.81 ^a	5.23 ^{bc}	8.33 ^a	0.35 ^b	9.86 ^a	17.54 ^a	90.23 ^{bc}
Stress تنش	0.03 ۰/۰۳	2.86 ^{bc}	0 ^c	0.20 ^b	0.53 ^{ab}	22.28 ^a	0.00 ^b	0.40 ^b	10.97 ^a	6.40 ^c	84.60 ^c
Normal نرمال	0.015 ۰/۰۱۵	13.83 ^a	0 ^c	0.18 ^b	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^b	0.15 ^b	0.28 ^b	7.52 ^c	86.74 ^c
Stress تنش	0.015 ۰/۰۱۵	0.36 ^c	17.07 ^a	0.18 ^b	0.00 ^b	4.28 ^{bc}	0.00 ^b	0.15 ^b	0.28 ^b	14.04 ^{ab}	96.93 ^a
Stress تنش	No nanoparticle بدون نانوذره	11.44 ^a	0 ^c	0.15 ^b	0.00 ^b	6.19 ^b	0.62 ^b	0.36 ^b	0.89 ^b	9.49 ^{bc}	95.72 ^{ab}
Normal نرمال	No nanoparticle بدون نانوذره	5.69 ^b	5.01 ^{bc}	7.88 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^b	6.03 ^a	11.38 ^a	7.71 ^c	97.61 ^a

حروف یکسان نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است.

کروموزوم‌های چسبنده می‌توانند نتیجه عملکرد ناقص یک یا دو نوع از پروتئین‌های غیرهیستونی اختصاصی درگیر در سازمان‌دهی کروموزومی باشند که برای تفکیک کروماتید ضروری هستند. تغییر عملکرد این پروتئین‌ها می‌تواند به دلیل جهش در ژن‌های ساختاری رمزکننده آن‌ها در نتیجه عامل جهش‌زا باشد (Gaulden 1987).

کروموزوم‌های تاخیردار یا سرگردان^۱ به یک یا چند کروموزوم اطلاق می‌شود که از تفکیک صحیح آنافازی عقب افتاده باشند. در مقابل، اصطلاح کروموزوم پیشرو^۲ به یک یا چند کروموزوم اطلاق می‌شود که حرکت زود هنگام در آنافاز را نشان بدهند و زودتر از سایر کروموزوم‌ها به قطبین برسند (Sheidai et al. 1999). برهمکنش تنش آبی و نانوذره در کروموزوم‌های تاخیردار در مرحله آنافاز II از نوع تغییر در مقدار بوده و در همه سطوح مورد بررسی تنش آبی، با افزایش غلظت نانوذره از فراوانی این نوع کروموزوم‌ها کاسته می‌شود. تاثیر نانوذره بر فراوانی این نوع ناهنجاری در شرایط نرمال بیشتر از شرایط تنش خشکی است و به‌طور کلی تنش خشکی سبب کاهش چشمگیر این نوع ناهنجاری شده است. هرگونه نقص در تشکیل کیاسما و وقوع کراسینگ‌اور می‌تواند باعث تشکیل کروموزوم تاخیردار شود. این کروموزوم‌ها طی مراحل بعدی میوز یا از بین می‌روند و یا به‌طور تصادفی به قطبین مهاجرت می‌کنند (Pagliarini 2000). کروموزوم‌های پیشرو و تاخیری می‌توانند نتیجه ظهور یونی‌والنت‌ها در انتهای مرحله آنافاز یا فعال شدن ژن دسیناپس و پیدایش یونی‌والنت‌ها در مرحله متافاز میوز I باشند. با توجه به نفوذ ناقص این ژن‌ها عوامل محیطی از جمله تنش خشکی می‌تواند بر شدت بیان آن‌ها اثرگذار باشد (Bione et al. 2000). برهمکنش متقابل تنش آبی و نانوذره در خصوص متغیرهای کروموزوم‌های پیشرو در آنافاز II و کروموزوم تاخیردار در آنافاز II نیز از نوع تغییر در مقدار بوده و غلظت ۰/۰۳ درصد نانوذره و عدم تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار این نوع ناهنجاری کروموزومی (۱۰۰ درصد) و از سوی دیگر کاهش معنی‌دار ناهنجاری کروموزوم تاخیردار (۷۰/۴۳ درصد) شد (شکل ۲ و ۳).



شکل ۲- دیاکینز و ناهنجاری‌های میوزی در زیره سبز

۱ و ۲- کوادری والنت (پیکان نازک)، پل کروماتیدی (پیکان توپر) در تیمار آبیاری نرمال و ۰/۰۳ درصد نانوذره ۳ و ۴ - کوادری والنت (پیکان نازک)، سین سایت در شرایط اعمال تنش خشکی و ۰/۰۳ درصد نانوذره ۵ و ۶ - کوادری والنت (پیکان نازک)، کروموزوم تاخیری در مرحله متافاز II (پیکان توپر) در شرایط آبیاری نرمال و ۰/۱۵ درصد نانوذره ۷ و ۸ - کوادری والنت (پیکان نازک)، توده‌ای شدن در تیمار تنش خشکی و اعمال ۰/۱۵ درصد نانوذره ۹ و ۱۰ - کوادری والنت (پیکان نازک)، کروموزوم پیشرو (پیکان توپر) در نمونه شاهد. ۱۱ و ۱۲ - کوادری والنت (پیکان نازک)، سه قطبی در شرایط تنش خشکی.

وجود پل‌های کروموزومی که ناشی از چسبندگی کروماتیدی می‌باشد، سبب خواهد شد که در نسل آینده، برخی از نتایج، فاقد یک کروموزوم یا قطعه‌ای از کروموزوم شوند و با جستجوی دقیق‌تر در این نتایج، به پایه‌های ژنتیکی متنوعی خواهیم رسید. احتمال بقای سلول‌های دارای کروموزوم‌های چسبنده کم است زیرا به‌طور عمده تفکیک این کروموزوم‌ها در آنافاز با تاخیر چند مرحله‌ای در میوز مواجه می‌شود. این ناهنجاری منجر به دو برابر شدن ژن(ها) در یک قطب و حذف ژن(ها) در قطب دیگر می‌شود (Shabrangi et al. 2010). چسبندگی کروموزومی می‌تواند در اثر عوامل ژنتیکی یا محیطی مانند اشعه ایکس، اشعه گاما، حشره‌کش‌ها و عناصر شیمیایی موجود در خاک (Bione et al. 2000) و یا برهمکنش عوامل ژنومی و محیطی (Ruediger 2009) نیز ایجاد شود.

¹ Laggard chromosome

² Leader chromosome

جدول ۴). 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 دانه گرده را تحت تأثیر قرار می دهد (Pagliarini 2000). کروموزومهای تاخیردار و پیشرو در بسیاری از گیاهان از جمله *Asparagus* (Sheidai 1991)، *Avena* (Koobaz 2000)، *Bromus Aegilops* (Fadai 2005)، *Aloe* (Mirzaei 2004) و *Onobrychis* (Ranjbar 2012) و زیره سیاه (Kumbhakar 2016) گزارش شده است. کروموزومهای تاخیردار در صورتی که نتوانند در زمانی که باید در تلوفاز به قطبها برسند، می توانند میکرونوکلئوس تولید کنند که به تشکیل دانه های گرده کوچک و شاید گامت هایی با تعداد کروموزوم های نامتعادل منجر شوند. این حالت را می توان در گامت های آنیپلوئید مشاهده کرد (Souza et al. 2006).

جدا شدن زود هنگام یونی والانها یا عملکرد آنها به عنوان کروموزوم سرگردان در آنافاز باعث ایجاد میکرونوکلئوس^۱ در تلوفاز می شود که معمولاً تا مرحله تتراد باقی می ماند (Kodura and Rao 1981). در این مطالعه هر کدام از غلظت های ۰/۰۳ نانوذره و تنش خشکی باعث افزایش معنی دار میکرونوکلئوس نسبت به شاهد شد. در همین حال، غلظت ۰/۰۳ درصد از نانوذره و تنش خشکی سبب بیشترین افزایش این نوع ناهنجاری شد (جدول ۴). سولفیدکادمیوم و مس را در افزایش ناهنجاری میکرونوکلئوس در زیره سیاه موثر دانستند (Kumbhakar et al. 2016). کروموزوم هایی که میکرونوکلئوس را طی میوز ایجاد می کنند، از میکروسپورهای میکروسیت جدا می شوند. میکرونوکلئوس ممکن است واجد دیواره میکروسپوری شده، نوعی برآمدگی را ایجاد کند. این میکروسیت های جدا شده منشأ ایجاد دانه گرده های نازا و کوچک خواهند بود (Pagliarini 2000). میکرونوکلئوس عاملی است که موجب حذف کروموزوم درون گونه ای می شود (Tjio and Levan 1950) و لذا از طریق تشکیل میکروسلولها فراوانی دانه های گرده عقیم را افزایش می دهد (Techio et al. 2006).

وقفه در جدا شدن کروموزومها در آنافاز II یا جدا نشدن کروموزومی در یک قطب آنافازی منجر به پدیده تاخیر آنافازی^۲ می شود؛ به طوری که در یکی از دو سلول مجاور در مرحله آنافاز II کروموزومها کاملاً تفکیک شده اند اما کروموزومهای سلول دیگر هنوز در استوای سلول قرار دارند. از بین کلیه تیمارهای مورد بررسی عدم تفرق صحیح کروموزومها^۳ تنها در نمونه شاهد مشاهده شد. به عبارت دیگر کلیه تیمارهای اعمال شده اعم از تنش خشکی یا تیمار نانوذره بصورت جداگانه یا همراه با هم سبب کاهش فراوانی این ناهنجاری شده است. مشاهده عدم تفرق صحیح کروموزومها در نمونه شاهد می تواند نشانه احتمال حضور کروموزومهای B در این گونه باشد. همچنین ناهنجاری تاخیر آنافازی تنها در نمونه تحت تنش خشکی و غلظت ۰/۰۳ درصد از نانوذره رویت شد. نقش کینه توکور را در تفکیک کروموزومها و اتصال رشته دوک به سانترومر مورد بررسی قرار داد و عامل اصلی در این دو ناهنجاری را غیرفعال شدن یکی از کینه توکورها در یکی از رشته های خواهری وعدم اتصال رشته دوک به سانترومر دانست (Sybenga 2014). با توجه به بررسی های انجام شده شاید بتوان این طور نتیجه گرفت که نانوذره و تنش خشکی بر روی کینه توکور اثر گذاشته و آن را غیرفعال کرده است. در نتیجه، اتصال رشته دوک به سانترومر ممکن نبوده و باعث تاخیر در آنافاز شده است.

ناهنجاری سه قطبی^۴ شامل تشکیل تریاد به جای تتراد در مرحله تلوفاز II است که به جای وجود چهار قطب کروموزومی در تلوفاز II، سه قطب در تشکیلات میکروسپوری دیده می شود. هرگونه اختلال در فعالیت رشته های دوک منجر به ایجاد پدیده تریپولار یا سه قطبی می شود. این پدیده عامل مهمی در ایجاد گامت های نابارور و پلی پلوئیدی شناخته می شود (Veilleux 1985; Bretagnolle and Thompson 1995). در این مطالعه تمام سطوح تنش اعم از تنش خشکی و نانوذره منجر به کاهش این ناهنجاری گردیده است؛ با نگاهی به روند تغییرات، به طور کلی تنش خشکی سبب کاهش این ناهنجاری شده است. با کاهش فراوانی این ناهنجاری باروری دانه گرده با مشکل کمتری مواجه

² Delays anaphase³ Nondisjunction chromosome⁴ Tripolar¹ Micronucleus

Chrysanthemum (Kim et al. 2009) به عنوان عامل مهم در پلی-پلوئیدی گزارش شده است.

بررسی دانه گرده

با در نظر گرفتن کلیه ترکیبات تیماری، بیشترین درصد کاهش باروری دانه گرده در ترکیب با بالاترین غلظت تیمار نانوذره مشاهده شد. بیشترین درصد باروری دانه گرده نیز در تیمارهای شاهد، تنش خشکی به همراه غلظت ۰/۰۱۵ درصد نانوذره و تنش خشکی بدون اعمال نانوذره مشاهده شد (شکل ۳ و جدول ۴). منصوری نیز در سطح ۰/۰۱۵ درصد از نانوذره به همراه تنش خشکی، افزایش ۱۶ درصدی عملکرد دانه را نسبت به تیمار شاهد (آبیاری نرمال بدون اعمال نانوذره) اعلام داشت (Mansouri et al. 2016). با توجه به اینکه در سطح ۰/۰۱۵ درصد از نانوذره به همراه تنش خشکی میزان تشکیل کیاسمای میانی نسبت به شاهد افزایش یافته لذا فراوانی کیاسمای میانی نمی تواند دلیلی بر ناباروری دانه گرده باشد. باروری دانه گرده در شرایط تنش خشکی، نسبت به شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد (جدول ۴) که آن را می توان با مقاوم بودن گیاه زیره به تنش خشکی مرتبط دانست و یا علت آن می تواند کاهش وقوع ناهنجاری سین سایت و سایر ناهنجاری های کروموزومی اشاره شده در مطالعه حاضر باشد. یکی از وقایع مهم طی تقسیم میوز، تشکیل کیاسما بین کروموزوم های همولگ است که دو اثر مهم دارد. نخست سبب نگهداری کروموزوم های همولگ در کنار هم تا آغاز مرحله آنافاز I می شود و دوم، باعث رفتار منظم و حرکت صحیح همولگ ها به سمت قطبین سلول خواهد شد.

خواهد بود. کمترین میزان سه قطبی در نمونه شاهد و تنش خشکی بدون نانوذره و تنش خشکی تحت تاثیر غلظت ۰/۰۱۵ درصد نانوذره مشاهده شد (شکل ۲ و جدول ۴). این ناهنجاری تاثیر مستقیم بر باروری دانه گرده دارد. Ahirwar در سال ۲۰۱۵ این نتیجه را برای *Allium* تحت تیمار با کلشی سین اعلام داشته اند. این پدیده در *Vicia faba* (Sjodin 1970) و *Ducrosia anethifolia* (Obeidi et al. 2013) نیز مشاهده شده است.

در نوع خاصی از سیتومیکسی همه کروموزوم های یک سلول به سلول مجاور منتقل می شود به این صورت که دیواره سلولی دو میوسیت در یکدیگر ادغام می شود و سلولی با دو برابر ماده ژنتیکی تشکیل می شود که این پدیده سین سایت^۱ نام دارد. در مطالعه حاضر تیمارهای شاهد، تنش خشکی بدون اعمال نانوذره، آبیاری نرمال به همراه غلظت ۰/۰۱۵ درصد نانوذره و تنش خشکی به همراه ۰/۰۳۰ درصد نانوذره کمترین میزان سین سایت را نشان دادند. در تیمارهای شاهد و تنش خشکی بدون اعمال نانوذره بیشترین دانه گرده بارور مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین میزان ناهنجاری سین سایت در تیمارهای آبیاری نرمال به همراه اعمال ۰/۰۳ درصد نانوذره و تنش خشکی به همراه اعمال ۰/۰۱۵ درصد نانوذره مشاهده شد. سین سایت در تعدادی از گونه های علوفه مرتعی از قبیل *Pennisetum americanum* (Rao and Koduru 1978)، *Dactylis glomerata* (Falistocco et al. 1994) و ذرت (Caetano-Pereira et al. 1999) به عنوان عامل اصلی نر عقمی و در *Aegilop* (Sheidai et al. 1999) و

^۱ Syncyte



شکل ۳- دانه گرده در زیره سبز

۱ و ۲- به ترتیب دانه گرده نرمال و نابالغ در نمونه تحت تیمار آبیاری نرمال و ۰/۰۳ درصد نانوذره ۳ و ۴- به ترتیب دانه گرده نرمال و نابالغ در نمونه تحت تیمار تنش خشکی و ۰/۰۳ درصد نانوذره ۵ و ۶- به ترتیب دانه گرده نرمال و نابالغ در نمونه تحت تیمار ۰/۰۱۵ درصد نانوذره و آبیاری نرمال ۷- دانه گرده نابالغ (پیکان) در کنار دانه گرده نرمال تحت شرایط تیمار با نانوذره در غلظت ۰/۰۱۵ درصد و تنش خشکی ۸ و ۹- به ترتیب دانه گرده بالغ و نابالغ در نمونه شاهد ۱۰ و ۱۱- به ترتیب دانه گرده نرمال و نابالغ در نمونه تحت تنش خشکی.

نتیجه گرفت که در یک سطح پلوئیدی برابر هر چقدر میزان وقوع ناهنجاری‌های کروموزومی چسبندگی کروموزومی، سه قطبی، سین سایت و میکرونوکلئوس بالاتر رود میزان باروری دانه گرده کاهش می‌یابد. اعمال نانوذره تأثیر به‌سزایی در افزایش این ناهنجاری‌ها داشته است به‌صورتی که سطح 0.03 درصد از نانوذره منجر به افزایش ناهنجاری میکرونوکلئوس شده است. با توجه به این موضوع می‌توان نتیجه گرفت که اعمال نانوذره اگرچه منجر به بهبود خصوصیات مورفولوژی گیاه زیره سبز گردیده (et al. 2017) اما منجر به کاهش باروری دانه گرده می‌شود.

لذا عدم تشکیل کیاسما به‌عنوان یکی از دلایل مهم کاهش باروری و ناهنجاری‌های کروموزومی محسوب می‌شود (Hore 1981). منصوری اعلام داشت که اعمال تنش خشکی منجر به کاهش عملکرد دانه به میزان ۴۵ درصد و استفاده از نانوذره منجر به جبران ۱۷ درصدی افت عملکرد دانه می‌شود (Mansouri et al. 2017). شاید بتوان علت تغییرات فیزیولوژیک در تمامی سطوح تنش خشکی و نانوذره را با تغییر درصد کیاسمای میانی و کل مرتبط دانست.

نتیجه‌گیری کلی

از مجموع نتایج حاصل از بررسی ناهنجاری‌های کروموزومی در مراحل گوناگون تقسیم میوز و میزان باروری دانه‌گرده می‌توان

منابع

- Ahirwar R and Verma RC (2015) Colchicine induced asynaptic chromosomal behavior at meiosis in *Allium cepa* L. *The Nucleus* 58:47-51.
- Bione NCP, Pagliarini MS and Ferraz de Toledo JF (2000) Meiotic behavior of several soybean varieties.
- Bretagnolle FA and Thompson JD (1995) Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. *New Phytologist* 129:1-22.
- Caetano-Pereira CM, Pagliarini MS and Brasil EM (1999) Cell fusion and chromatin degeneration in an inbred line of maize. *Genetics and molecular biology* 22:69-72.
- Fadaei F, Sheidai M, Asadi M (2010) Cytological study the genus *Arenaria* L. (Caryophyllaceae). *Caryologia* 63:149156.
- Falisticco E, Tosti T, Falcinelli M (1995). Cytomixis in pollen mother cells of diploid *Dactylis*, one of the origin of $2n$ gametes. *J Hered* 89:448-53.
- Gaulden ME (1987) Hypothesis: Some mutagens directly alter specific chromosomal proteins thus produce chromosome stickiness. *Mutagenesis* 2:357365.
- 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.
- Iovene M, Grzebelus E, Carputo D, Jiang J and Simon PW (2008) Major cytogenetic landmarks and karyotype analysis in *Daucus carota* and other Apiaceae. *American Journal of Botany* 95:793-804.
- Kafi M, Mohassel MR, Koocheki A, and Nassiri M (2006) Cumin (*Cuminum Cyminum*): production and processing, Science Publishers, Ferdowsi University of Mashhad.
- Kim JS, Oginuma K and Tobe H (2009) Syncyte formation in the microsporangium of *Chrysanthemum* (Asteraceae): a pathway to infraspecific polyploidy. *Journal of Plant Research* 122:439-444.
- Kodura PRK, Rao MK (1981) Cytogenetics of synaptic mutants in higher plants. *Theoretical and Applied Genetics* 59:197-214.
- Koobaz P (2000) Biosystematic study of species and populations of *Avena* L. in Iran, MSc thesis. Shahid Beheshti University.
- Kumbhakar DV, Datta AK, Mandal A, Das D, Gupta S, Ghosh B, Halder S and Dey S (2016) Effectivity of copper and cadmium sulphide nanoparticles in mitotic and meiotic cells of *Nigella sativa* L. (black cumin)—can nanoparticles act as mutagenic agents?. *Journal of Experimental Nanoscience* 11:823-839.
- Mansouri M, Akbari GA, Mortazavian SMM (2017) The effect of nanoparticles of titanium dioxide on yield and yield components of different ecotypes of cumin in drought stress conditions, *Journal of Crops Improvement* 19:461473.
- Mortazavian SMM, Safari B, Sadat Noori SA, Foghi B (2018) Evaluation of Diverse Cumin (*Cuminum cyminum* L.) Ecotypes for Seed Yield under Normal and Water Stress Condition. *JAST*. 20:359372.
- Obeidi L, Mehrabi AA, Omid M and Oladza A (2013) Meiotic behavior and pollen viability of *Ducrosia anethifolia* (DC). *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 20(1).
- Pagliarini MS (2000) Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology* 23:997-1002.
- Rao MK and Koduru PRK (1978) Cytogenetics of a factor for syncyte formation and male sterility in *Pennisetum americanum*. *Theoretical and Applied Genetics* 53:1-7.
- Ruediger HWR (2009) Genotoxic effects of radiofrequency electromagnetic fields. *Pathophysiology* 16:89-102.

- Safari B, Mortazavian SMM, Sadat Noori SA, Foghi B, (2017) Evaluation of drought tolerance in endemic ecotypes of cumin using tolerance indices. *Journal of Plant Production Research* 23:185-204.
- Shabrangi A, Sheidai M, Majd A, Nabini M, Dorranian D (2010) Cytogenetic abnormalities caused by extremely low frequency electromagnetic fields in canola. *Science Asia* 36:292-296.
- Sheidai M (1991). Variations in meiotic chromosomes in *Asparagus L.* *Biovigyanum* 17:45-47.
- Sheidai M, Saeed AM, Zehzad B (1999) Meiotic studies of some *Aegilops* (Poaceae) species and populations in Iran. *Edinburgh Journal of Botany* 56:405-419.
- Sheidai M, Kalhor-Home N and Poorneydanei A (2007) Cytogenetic study of some populations of *Foeniculum vulgare* (Umbelliferae) in Iran. *Caryologia*, 3: 257-261.
- Sjodin, J., 1970. Induced asynaptic mutants in *Vicia faba* L. *Hereditas* 66:215-32.
- Souza MM, Martins ER, Pereira TNS and Olivera LO (2006) Reproductive studies on Ipecac (*Cephalis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich, Rubiaceae): Meiotic behavior and pollen viability. *Brazilian Journal of Biology* 66:151159.
- Sybenga J (2014) Incomplete pole orientation of kinetochores in complex meiotic metaphase I configurations delays metaphase anaphase transition in *Secale*. *Journal of Genome* 57: 233238.
- Techio VH, Davide LC and Pereira AV (2006) Meiosis in elephant grass (*Pennisetum purpureum*), pearl millet (*Pennisetum glaucum*) (Poaceae, Poales) and their interspecific hybrids. *Genetics and Molecular Biology* 29:353362.
- Tjio JH and Levan A (1950) The use of oxyquinoline in chromosome analysis. *Anales Estacion Exper Aula Dei* (Spain) 2:2146.
- Veilleux RE (1985) Diploid and polyploidy gametes in crop plants: mechanism of formation and utilization in plant breeding. *Plant Breed. Rev* 3:253-288.
- Zheng L, Su M, Liu Ch, Chen Li, Huang H, Wu X, Liu X, Yang Gao F, Hong F (2007) Effects of Nanoanatase TiO₂ on Photosynthesis of Spinach Chloroplasts Under Different Light Illumination. *Biological Trace Element Research* 119:68-76