

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 سایت 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 ۰/۱۵ 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 تاثیر مثبت نانوذره بر افزایش عملکرد بیشتر به صورت غیر مستقیم بوده و به طور مستقیم باروری دانه گرده را کاهش می دهد.

واژه های کلیدی

تقسیم کاهشی

تنش غیرزنده

گیاه دارویی

ناهنجاری کروموزومی

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 برگ‌های اغلب مرکب از بریدگی‌های باریک و نازک، آن‌ها را از سایر گیاهان به خوبی متمایز می‌سازد. این خانواده، گیاهان دارویی متعدد و مهمی را شامل می‌شود که زیره سبز یکی از مهم‌ترین آن‌هاست. گیاه زیره سبز که به‌عنوان یکی از سردمداران گیاهان ادویه‌ای نیز شناخته می‌شود بعد از فلفل دومین گیاه ادویه‌ای مهم در دنیاست (Mortazavian et al. 2018). اسانس موجود در بذور این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضدنفخ، ضدباکتری و ضدعفونی کننده می‌باشد (Kafi et al. 2006). هرچند بیشتر مناطق کشت زیره سبز ایران مربوط به مناطق خشک و نیمه خشک است؛ تحقیقات مختلف نشان‌دهنده کاهش عملکرد دانه این گیاه در صورت مواجهه با تنش کم‌آبی بخصوص در مراحل گلدهی است (Safari et al. 2017). امروزه به‌کارگیری روش‌های نوین در کاهش اثرات مخرب تنش خشکی در دست تحقیق و بررسی اولیه است. نانوذرات دی‌اکسید 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 رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گزارش شده و در زیره سبز مورد بررسی قرار گرفته است (Zheng et al. 2007; Mansouri et al. 2017). علی‌رغم خواص دارویی فراوان گونه‌های 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 مطالعه‌ای که بر روی زیره سیاه تحت تأثیر نانوذره سولفیدمس و کادمیوم صورت گرفت، ضمن مشاهده تغییرات سیتوژنتیک، مشخص شد که نانوذرات دارای اثرات جهش‌زایی مشابه با جهش‌زاهای متعارف مانند تابش گاما و تیمیل سولفونات می‌باشند. در برخی مطالعات گزارش شده تیمارهای نانوذرات، میزان تشکیل بذر را به دلیل اختلال در فرایندهای نموی بذر کاهش می‌دهد (Kumbhakar et al. 2016).

Obeidi et al. (2013) در بررسی مراحل مختلف تقسیم میوزی گیاه مشگک (*Ducrosia anethifolia*)، ناهنجاری‌های میوزی شامل چسبندگی کروموزومی، کروموزوم تأخیردار، مهاجرت زود هنگام کروموزوم‌ها، توده‌ی کروماتینی و میکرونوکلئوس را با فراوانی کم مشاهده کردند. با توجه به شکل‌گیری بی‌والانت طبیعی در بیشتر سلول‌های مطالعه شده و بالا بودن شاخص میوزی، رفتار میوزی گونه طبیعی و رنگ‌پذیری دانه گرده ۹۷ درصد ارزیابی شد (Obeidi et al. 2013). در مطالعه‌ای که بر روی ۱۳ جمعیت رازیانه صورت گرفت، ضمن اعلام تعداد کروموزوم پایه (x=11) در تمامی جمعیت‌ها، حالت‌های بی‌والانت و کوادری‌والانت نیز مشاهده شد. طبق این گزارش، تشکیل هر دو نوع بی‌والانت حلقوی و میله‌ای در مرحله دیاکینز در جمعیت‌ها 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 ناهنجاری‌های میوزی و ناباروری دانه گرده مشاهده شد (Hore 1981). اثر مثبت نانوذره‌ی اکسیدتیتانیوم 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 نانوذره‌ی اکسید تیتانیوم بر خصوصیات مورفولوژی و عملکرد و اجزای عملکرد زیره سبز، لازم است تا اثر آن‌ها از منظر ژنتیکی بر تفکیک کروموزوم‌ها و نحوه برهمکنش آن‌ها طی مراحل تقسیم سلولی مشخص شود تا در برنامه‌ریزی‌های به‌نژادی و توصیه‌های بعدی دقت بیشتری لحاظ شود. لذا این پژوهش برای نخستین بار به‌منظور بررسی نحوه تأثیر تنش خشکی و نانوذره‌ی اکسیدتیتانیوم در سطح کروموزومی بر مراحل تقسیم میوز زیره سبز و باروری دانه گرده صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور محلول‌پاشی نانوذرات دی-اکسیدتیتانیوم (۰/۰۳، ۰/۱۵ درصد و شاهد) و تیمار آبی (آبیاری نرمال در حد FC و تنش ۴۰ FC درصد در مرحله آغاز رشد زایشی) بر روی اکوتیپ منتخب درمیان خراسان جنوبی در قالب طرح بلوک‌های 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. به منظور 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 اندازه طبیعی ثبت شد (Obeidi et al. 2013). اندازه‌گیری قطر دانه گرده به کمک نرم‌افزار image tools version 2.0 بر روی ۱۰۰ دانه گرده به صورت تصادفی انجام شد و باروری دانه گرده مورد مطالعه قرار گرفت.

نتایج و بحث

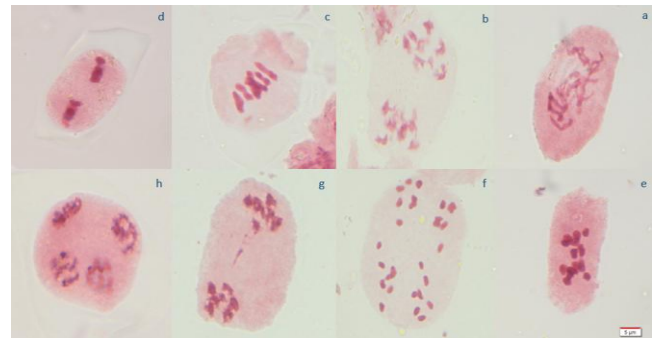
بررسی رفتار کروموزومی و ناهنجاری‌های میوزی در گیاهان شاهد (آبیاری نرمال، بدون اعمال نانوذره) تمامی مراحل میوز به صورت نرمال مشاهده و ثبت شد (شکل ۱). در این مطالعه عدد پایه کروموزومی در گیاه زیره سبز مانند اکثر گیاهان متعلق به خانواده چتریان $n=x=7$ مشاهده شد؛ هرچند در خانواده چتریان تعداد کروموزوم‌های 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 به جز 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 (به ترتیب 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). به منظور رنگ‌آمیزی، از محلول رنگی استوارسین ۱ درصد استفاده شد. به دلیل 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 قرار گرفت تا رنگ استوارسین بهتر جذب سلول‌های میوزی شود. تصویربرداری لام‌ها به وسیله 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 معنی‌دار 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 معنی‌دار 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 I - b- پروفاز II - c- متافاز I - d- متافاز II - e- آنافاز I - f- آنافاز II - 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 می‌شود. وقوع کیاسمای میانی می‌تواند نوترکیبی ژن‌های میانی را افزایش داده و بر افزایش تنوع ژنتیکی مؤثر باشد (Fadaei et al. 2010). براساس مطالعه منصوری 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 کوادری‌والنت	Hexavalent هگزاوالنت	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 معنی دار در سطح پنج درصد و یک درصد در داخل جدول با اعداد زیرخط‌دار مشخص شده‌اند.

جدول ۲- جفت شدگی کروموزومها در مرحله دیاکینز در زیره سبز

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

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
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>
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>
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>

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	میکرونوکلتوس	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
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
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>
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>

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

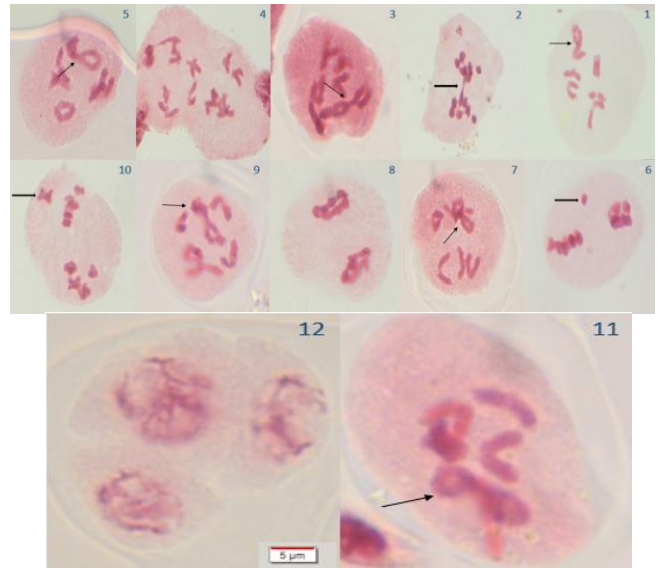
جدول ۴- ناهنجاری کروموزوم‌ها در مراحل تقسیم میوز در زیره سبز

Water treatment تیمار آبی	Nanoparticle treatment (percentage) تیمارهای نانوذره (درصد)	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
			I متافاز	II متافاز	II آنافاز	II آنافاز	II تروفاز	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 ۱).



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 ژن‌ها (ها) در یک قطب و حذف ژن‌ها (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

وقفه در جدا شدن کروموزومها در آنافاز II یا جدا نشدن کروموزومی در یک قطب آنافازی منجر به پدیده تاخیر آنافازی² می‌شود؛ به طوری که در یکی از دو سلول مجاور در مرحله آنافاز II کروموزومها کاملاً تفکیک شده‌اند اما کروموزومهای سلول دیگر هنوز در استوای سلول قرار دارند. از بین کلیه تیمارهای مورد بررسی عدم تفرق صحیح کروموزومها³ 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 می‌تواند 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 کینه‌توکور 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 کینه‌توکورها در یکی از رشته‌های خواهری وعدم اتصال رشته دوک به سانترومر دانست (Sybenga 2014). با توجه به بررسی‌های انجام شده شاید بتوان این‌طور نتیجه گرفت که نانوذره و تنش خشکی بر روی کینه‌توکور 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 سه‌قطبی⁴ شامل تشکیل تریاد به جای تتراد در مرحله تلوفاز II است که به‌جای وجود چهار قطب کروموزومی در تلوفاز II، سه قطب در تشکیلات میکروسپوری دیده می‌شود. هرگونه اختلال در فعالیت رشته‌های دوک منجر به ایجاد پدیده تریپولار یا سه‌قطبی می‌شود. این پدیده عامل مهمی در ایجاد گامت‌های نابارور و پلی‌پلوئیدی شناخته می‌شود (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، به‌طور کلی تنش خشکی سبب کاهش این ناهنجاری شده است. با کاهش فراوانی این ناهنجاری باروری دانه‌گرده با مشکل کمتری مواجه

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 دانه‌گرده را تحت تأثیر قرار می‌دهد (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)، *Onobrychis Ducrosia* (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، می‌توانند میکرونوکلیوس تولید کنند که به تشکیل دانه‌های گرده کوچک و شاید گامت‌هایی با تعداد کروموزومهای نامتعادل منجر شوند. این حالت را می‌توان در گامت‌های آنیوپلوئید مشاهده کرد (Souza et al. 2006).

جدا شدن زود هنگام یونی‌والانها یا عملکرد آنها به عنوان کروموزوم سرگردان در آنافاز باعث ایجاد میکرونوکلیوس¹ در تلوفاز می‌شود که معمولاً تا مرحله تتراد باقی می‌ماند (Kodura and Rao 1981). در این مطالعه هر کدام از غلظت‌های ۰/۰۳ نانوذره و تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار میکرونوکلیوس 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 میکرونوکلیوس در زیره سیاه موثر دانستند (Kumbhakar et al. 2016). کروموزوم‌هایی که میکرونوکلیوس را طی میوز ایجاد می‌کنند، از میکروسپورهای میکروسیت جدا می‌شوند. میکرونوکلیوس ممکن است واجد دیواره میکروسپوری شده، نوعی برآمدگی را ایجاد کند. این میکروسیت‌های جدا شده منشأ ایجاد دانه‌گرده‌های نازا و کوچک خواهند بود (Pagliarini 2000). میکرونوکلیوس عاملی است که موجب حذف کروموزوم درون گونه‌ای می‌شود (Tjio and Levan 1950) و لذا از طریق تشکیل میکروسلول‌ها فراوانی دانه‌های گرده عقیم را افزایش می‌دهد (Techio et al. 2006).

² Delays anaphase³ Nondisjunction chromosome⁴ Tripolar¹ Micronucleus

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

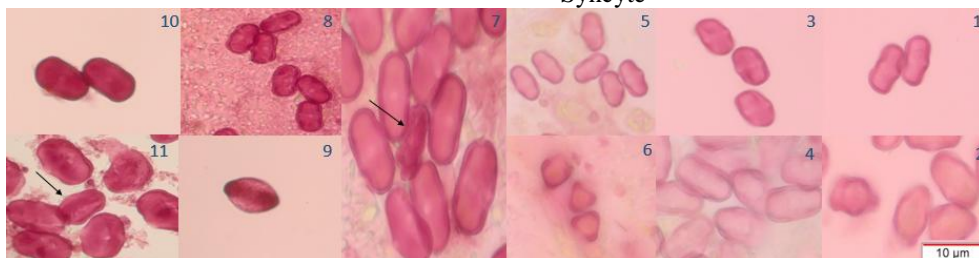
بررسی دانه گرده

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 سینسایت 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 کلسی 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 سیتومیکنسی 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 سینسایت 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 سینسایت را نشان دادند. در تیمارهای شاهد و تنش خشکی بدون اعمال نانوذره بیشترین دانه گرده بارور مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین میزان ناهنجاری سینسایت در تیمارهای آبیاری نرمال به همراه اعمال ۰/۰۳ درصد نانوذره و تنش خشکی به همراه اعمال ۰/۰۱۵ درصد نانوذره مشاهده شد. سینسایت 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 عقیمی و در *Aegilop* (Sheidai et al. 1999) و

1 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 (Mansori 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, Omidi M and Oladzaad 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, Nabiyuni M, Dorrani 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.* *Biovigyanam* 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