

## مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. *Odontostephana*

عبدالکریم چهرگانی راد\*، فریبا محسن‌زاده و سارا غفوری

همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۶

### چکیده

مطالعه تکوین اندام‌های زایشی اهمیت ویژه‌ای در علم گیاه‌شناسی و زیست‌شناسی تکوینی دارد. در این پژوهش مراحل و چگونگی تکوین تخمک و دانه گرده در گیاه *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. *odontostephana* بررسی شد. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در FAA 70 تثبیت و در الکل ۷۰٪ نگهداری گردید. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین، با ضخامت ۱۰-۷ میکرومتر با میکروتوم برش‌گیری و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین انجام شد. لام‌های تهیه شده از مراحل مختلف تکوینی با دقت و با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی گردید. نتایج نشان داد که بساکها دارای ۴ کیسه گرده بوده و نمو دیواره بساک از نوع دولپه‌ای است و دیواره بساک جوان شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه تاپی است. لایه تاپی پلی‌پلوئیدی بالایی را نشان می‌دهد که برای متابولیسم آن ضروری است و در مراحل اولیه از نوع ترش‌حی ولی در مراحل پایانی تکوین از نوع پلاسمودیال است. تترادهای میکروسپور عمدتاً از نوع تتراهدردال و گاهی تتراکونال و یا خطی می‌باشند. دانه‌های گرده سه شکافه و با تزئینات سوزنی شکل در زمان انتشار هستند. برخی از یاخته‌های میکروسپور افزایش اندازه یافته و به نظر می‌رسد طرحی از پدیده Nemecc را نشان می‌دهند. کریستال‌های ستاره‌ای شکل در یاخته‌های لایه مکانیکی و بافت رابط بساک مشاهده شد. تخمک از نوع واژگون، تک پوسته‌ای و کم خورش است. تقسیم یاخته‌ای در مگاسپوروسیت از هر دو نوع طولی و مورب بوده و منجر به تشکیل تترادهای خطی، T شکل یا توده‌ای می‌شود. نمو کیسه رویانی از طرح تک اسپوری و تیپ پلی‌گونوم تبعیت می‌کند ولی تعداد یاخته‌های آنتی پود تا ۸-۶ افزایش می‌یابد و هسته‌های آنها پلی‌پلوئید می‌باشد. دو هسته قطبی به سمت دستگاه تخم مهاجرت می‌کنند و اندکی قبل از لقاح در آنجا ترکیب می‌شوند و هسته ثانویه دیپلوئید را به وجود می‌آورند. تشکیل کریستال‌های بیضوی تا چند ضلعی در قسمت بالایی دیواره تخمدان از شاخص‌های ویژه این گونه است.

واژه‌های کلیدی: *Anthemis odontostephana* Asteraceae، دانه گرده، تخمک، میکروسپورزایی، مگاسپورزایی

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱-۳۸۳۸۱۰۵۸، پست الکترونیکی: Chehregani@basu.ac.ir

### مقدمه

در سال‌های اخیر زیست‌شناسی تکوینی تولید مثلی که مطالعه مراحل مختلف تکوین گل یعنی اندام‌زایی، گرده‌افشانی، لقاح، رویان‌زایی، بلوغ دانه، پراکندگی و رویش دانه‌ها را شامل می‌شود، مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. درک و توسعه دانش زیست‌شناسی تکوینی تولید مثلی، به‌ویژه برای حفظ گیاهان نادر و در حال انقراض ضروریست (۱).

بر اساس گزارش‌های باغ گیاه‌شناسی سلطنتی کیو، تیره Asteraceae بیش از ۱۶۰۰ سرده و ۲۳۰۰۰ گونه دارد. در این تیره تقسیم‌بندی سرده‌ها و تشخیص مرز بین آنها اغلب مشکل‌زا بوده، به‌طوری‌که برخی از آنها باید پی در پی به زیرگروه‌های کوچکتر تقسیم شوند (۱۴، ۱۵). طایفه بابونه

و تحلیل مراحل تکوینی گامتوفیت نر و ماده است.

### مواد و روشها

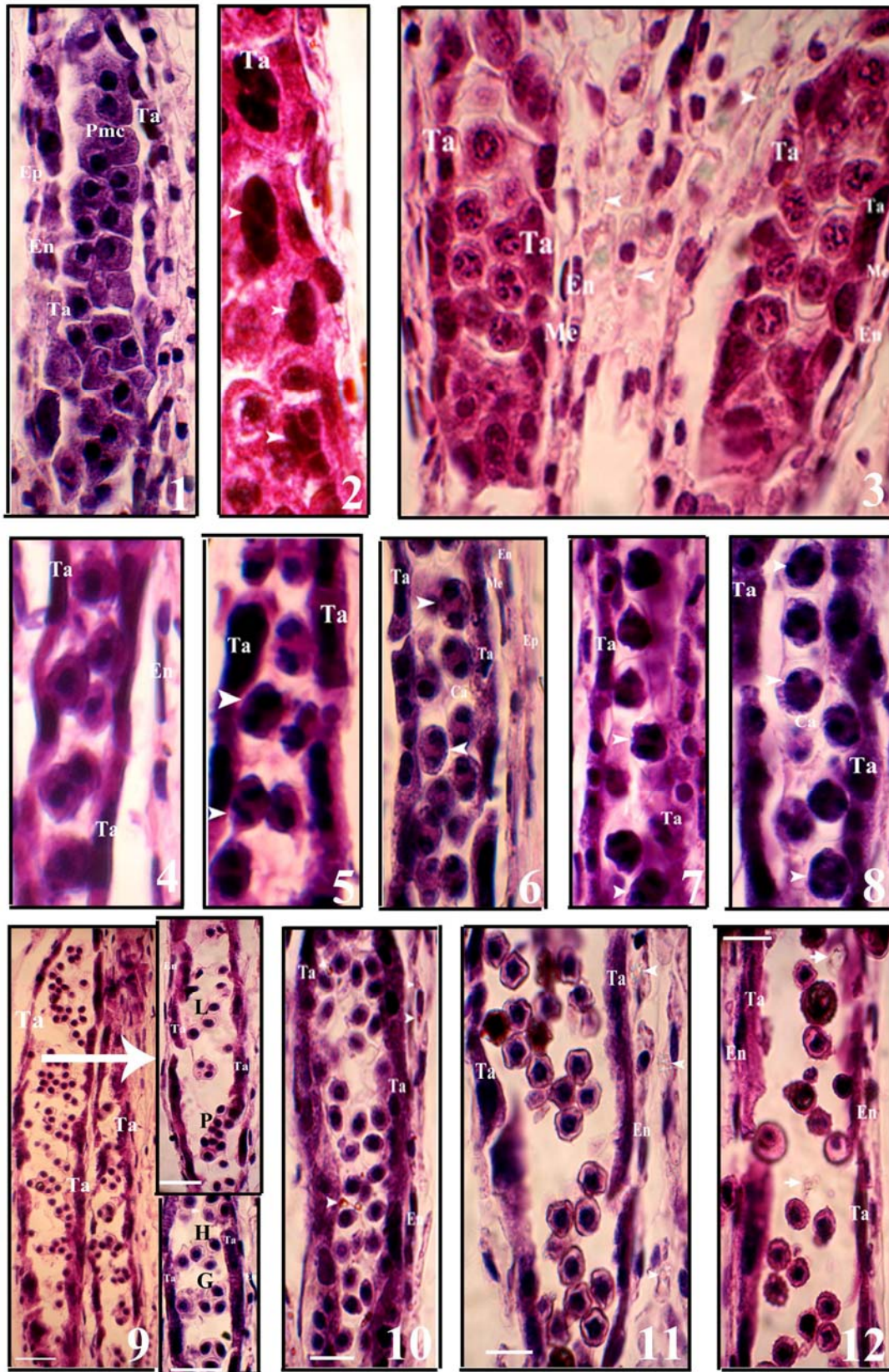
برای مطالعه تکوینی *Anthemis odontostephana* Boiss. گیاهان از رویشگاه‌های طبیعی Cv. *Odontostephana* خود از تپه عباس‌آباد همدان جمع‌آوری شدند. در این گونه ساقه به ارتفاع ۵ تا ۱۵ سانتیمتر، ساده یا از پایین با شاخه‌های تنک، دمگل‌آذین در بخش فوقانی کمی ضخیم شده یا نشده، فندقه‌ها به طول حدود ۲ میلی‌متر، زمان گل و میوه‌دهی اوایل تا اواسط بهار، گیاه منطقه ایرانی تورانی، و خلیجی عمانی است. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نموی جمع‌آوری و در تثبیت‌کننده ۷۰٪ FAA (Formalin, Acetic acid, Ethanol) قرار داده شد. سپس ذخیره سازی در الکل ۷۰٪ انجام گردید. پس از آنگیری از نمونه‌ها و قالب‌گیری در پارافین، برش‌گیری نمونه‌ها توسط میکروتوم چرخان Micro DC 4055 (Germany) با ضخامت ۷ تا ۱۰ میکرومتر انجام شد و برش‌های حاصل، پس از پارافین‌زدایی و آبدهی، با هوماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند (۹). با مطالعه دقیق لام‌های تهیه شده، هر یک از مراحل تکوین تخمک و پرچم در چندین برش به وسیله میکروسکوپ نوری Zeiss AxioStar Plus (Germany) بررسی شد و عکس‌برداری به کمک دوربین دیجیتال Canon Power Shot G11 انجام گردید.

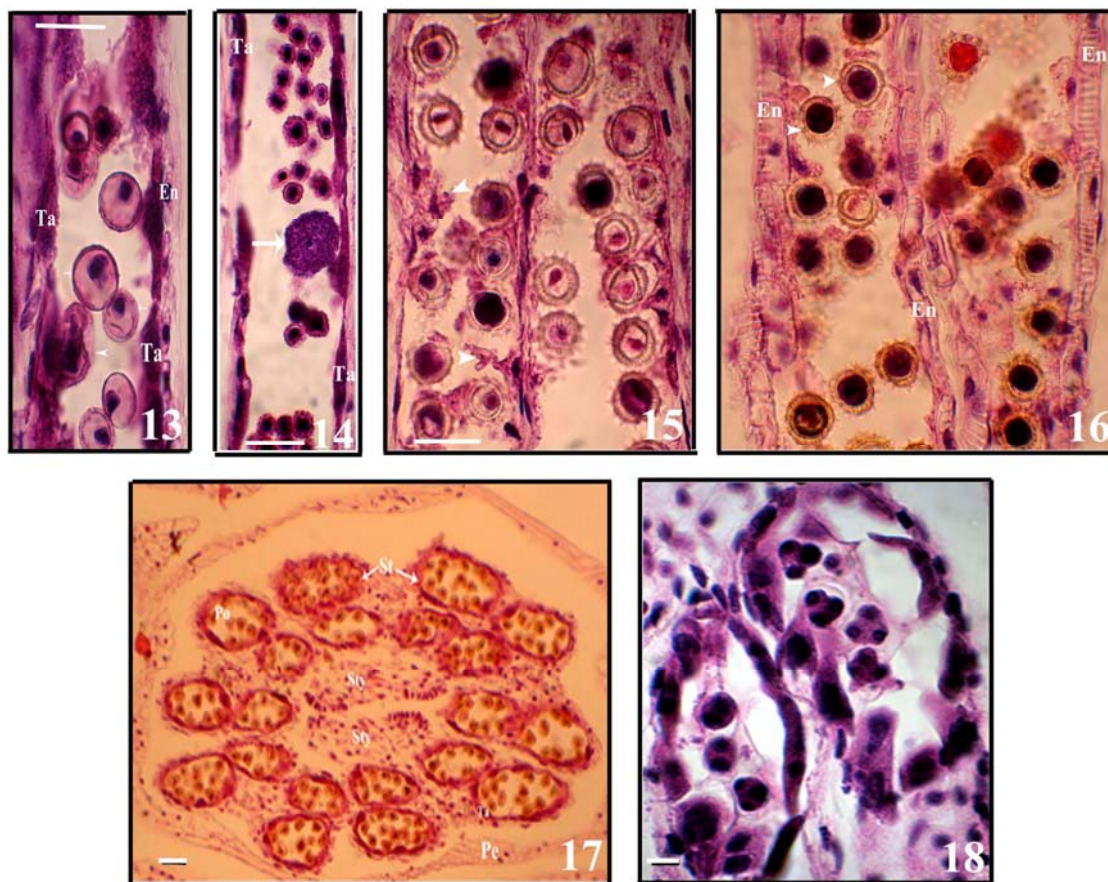
### نتایج

**تکوین بساک و دانه گرده:** بساک در گیاه مورد مطالعه از نوع چهار کیسه گرده‌ایست. در مرحله اولیه نمو بساک، ردیف‌هایی از یاخته‌های آرکتوسپوری در زیر اپیدرم بساک متمایز می‌شود و برای تشکیل یاخته‌های بیرونی (جداری) و داخلی (هاگزا) به صورت مماسی تقسیم می‌شوند. یاخته‌های آرکتوسپوری با سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم خود قابل تشخیص هستند. یاخته‌های هاگزای بوجود آمده از یاخته‌های آرکتوسپور مستقیماً به یاخته‌های مادر گرده (میکروسپوروسیت) تمایز پیدا می‌کنند (شکل ۱).

یکی از بزرگترین طایفه‌های تیره کاسنی است. تمرکز اصلی آن در آسیای مرکزی، منطقه مدیترانه و آفریقای جنوبی است. برخی آن را در ۴ زیر طایفه و ۷۵ جنس خلاصه کرده‌اند (۵، ۱۹).

پراکنش جهانی و وجود سرده‌ها و گونه‌های فراوان در این تیره که بسیاری از آنها خواص دارویی دارند، تیره مرکبان را موضوع مطالعات متعددی نموده است (۴، ۱۰، ۳۶). بسیاری از گیاهان این تیره از نظر دارویی و داشتن اسانس، ارزش ویژه‌ای دارند (۲۴، ۴۳). مطالعات متعدد کاربولوژیک و فیتوشیمی در اعضای این تیره انجام شده است (۳۷، ۳۸)، اما باوجود این به نظر می‌رسد که مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی محدودی در این تیره انجام شده است، بنابراین هنوز انجام مطالعات جدید تکوینی برای افزایش دانش و آگاهی در مورد گیاهان این تیره ضروریست (۳۴). همچنین پیش‌بینی می‌شود مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی بتواند در کنار سایر مطالعات در حل مشکلات آرایه‌شناختی این گروه نیز همانند سایر تیره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (۲۲، ۳۴). به‌طوری‌که مطالعات رویان‌شناختی محدود انجام شده ویژگی‌های استثنایی و نادر متعددی را در گیاهان این تیره نشان داده که عبارتند از: وجود پدیده Nemece یعنی تشکیل ساختارهای شبیه کیسه رویانی در دانه گرده (۱۳)، افزایش یاخته‌های قرینه (سینرژیدها) در کیسه رویانی (۱، ۱۱)، افزایش یاخته‌های آنتی پود (۲، ۳، ۳۰، ۳۳)، تکوین کیسه رویانی ۴ یاخته‌ای (۱۸) و وجود آپومیکسی (۸، ۱۲). بنابراین انجام مطالعات تکوینی به‌منظور توسعه دانش زیست‌شناسی تولید مثلی در گیاهان این تیره ضروریست. با توجه به ارزش دارویی و وجود اسانس در گونه *Anthemis odontostephana* این گونه به‌منظور مطالعات تکوینی در پژوهش حاضر انتخاب شده است. بر اساس مطالعات مرجع‌شناختی بعمل آمده، پژوهش حاضر اولین گزارش در مورد تکوین اندامهای زایشی گونه *Anthemis odontostephana* است. هدف از انجام این بررسی، تجزیه





شکلهای ۱۸-۱: نشان‌دهنده تکوین پرچم و دانه گرده در *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. *odontostephana*: (۱) برش طولی از بساک، یاخته‌های میکروسپوروسیت که در این نمونه در دو ردیف طولی در بساک قرار می‌گیرند. در این برش به خوبی چهار لایه تشکیل‌دهنده دیواره بساک، یعنی تاپی، لایه مکانیکی، لایه میانی و اپیدرم دیده می‌شود. (۲) برش طولی از بساک که از لایه مغذی عبور نموده و تقسیمات میتوزی یاخته‌های مغذی را نشان می‌دهد که منجر به دو هسته‌ای شدن و یا پلی‌پلوئیدی در یاخته‌های لایه مغذی می‌گردد. (۳) برش طولی و عرضی از بساک که نشان‌دهنده آغاز تقسیم میوز (پروفاز I) در یاخته‌های مادر گرده است و کریستال‌های ستاره‌ای شکل موجود در بافت رابط نیز مشاهده می‌شود. (۴) مرحله متافاز I. (۵) آنافاز I. (۶) تلوفاز I. (۷) متافاز II. (۸) آنافاز II. (۹) برش طولی بساک در مرحله تلوفاز دو، و تتراد میکروسپور که انواع تترادها شامل تراگونال (g)، تتراهدرا (h)، خطی (l) و پلی‌یاد (p) می‌باشد. (۱۰) برش طولی بساک در مرحله شروع رها شدن میکروسپورها از تتراد، کریستالهای بیضی شکل قرمز رنگی نیز در دیواره بساک و داخل آن دیده می‌شود که با پیکان مشخص شده است. (۱۱) برش طولی بساک در مرحله میکروسپورها (گرده‌های جوان) رها شده از تتراد. شکل میکروسپورها منظم و هسته منفرد آنها قابل مشاهده است؛ لایه مغذی از نوع ترش‌چی بوده و یاخته‌های آن در جای خود باقی مانده‌اند. کریستالهای ستاره‌ای یاخته‌های لایه مکانیکی (h) به خوبی نمایان است. (۱۲) در دانه‌های گرده جوان تشکیل دیواره خارجی (اگزین) شروع شده و تنوع اندازه میکروسپورها به خوبی مشاهده می‌شود. در این مرحله شروع پدیده Nemic نیز دیده می‌شود. (۱۳) رشد و واکنش شدن میکروسپورها. (۱۴) برش طولی بساک که پدیده Nemic در آن کامل شده است (پیکان). (۱۵) برش طولی بساک که ضمامم پری پلاسمودیومی (پیکان) حاصل از یاخته‌های مغذی به سمت حفره بساک تشکیل شده است. (۱۶) برش طولی از بساک در مراحل پایانی نمو و بلوغ دانه‌های گرده. اگزین دارای خارهای درشت است، لایه تاپی به طور کامل تحلیل رفته است. (۱۷) برش عرضی از یک گل با پنج بساک دارای ۴ کیسه گرده که نمو دانه‌های گرده در کلیه کیسه‌های گرده ناهمزمان است. (۱۸) در کیسه‌های گرده یک پرچم، نمو دانه‌های گرده همزمان نیست.

مخفف‌ها: pmc، یاخته مادر گرده؛ Sta، بساک؛ pe، گلبرگ؛ Ca، لایه کالوز؛ Me، لایه میانی؛ Ta، تاپی؛ En، لایه مکانیکی؛ Ep، اپیدرم.

ادامه می‌یابد و توده یاخته‌ای شبیه به کیسه رویانی تخمک در داخل دانه گرده تشکیل می‌شود. این پدیده بسیار نادر است ولی در گیاهان تیره آفتاب‌گردان به دفعات گزارش شده است. میکروسپورها رشد می‌کنند، لایه‌های آگزین در آنها تمایز می‌یابد و تزئینات دانه گرده که در این گیاه سوزنی شکل (Echinate) است، آشکار می‌گردد (شکل ۱۴). در این مرحله ضمام پری پلاسمودیومی حاصل از یاخته‌های مغذی به سمت حفره بساک تشکیل شده‌است که نشان می‌دهد لایه تاپی (مغذی) در مراحل پایانی تکوین بساک از نوع پلاسمودیال (تهاجمی) است (شکل‌های ۱۴ و ۱۵).

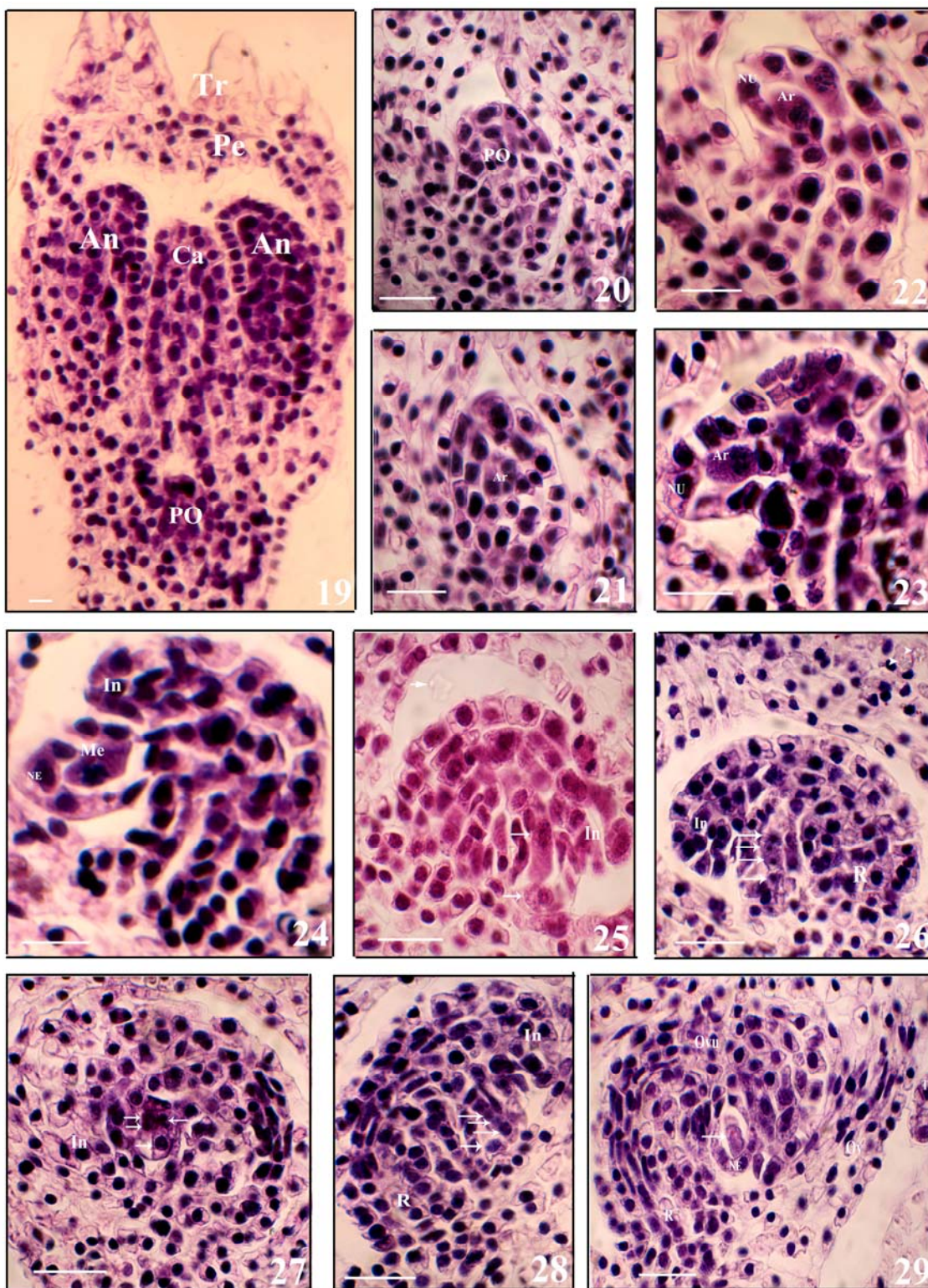
به طوری که هسته میکروسپور با تقسیم میتوزی دو هسته با اندازه‌های مختلف را به وجود می‌آورد که هسته بزرگتر، هسته رویشی و دیگری هسته زایشی است. هسته زایشی برای تشکیل دو هسته اسپرمی متحمل یک تقسیم میتوزی می‌شود و دانه‌های گرده بالغ با سه منفذ رویشی و سه یاخته‌ای هستند. در اغلب نمونه‌های تهیه شده از بساک گیاهان مورد مطالعه، مشاهده شد که در کلیه کیسه‌های تشکیل‌دهنده یک بساک و همچنین بساک‌های مختلف، از نظر تکوین دانه‌های گرده همزمانی وجود دارد (شکل ۱۶). اما مواردی نیز مشاهده شد که در آن، کیسه‌های گرده یک بساک از نظر تکوینی همزمان نیستند و یا حتی در داخل یک کیسه گرده، یاخته‌های در حال تکوین به دانه گرده ناهمزمانی دارند (شکل ۱۷). از ویژگی‌های گیاه مورد مطالعه تنوع در یاخته‌های حاصل از میوز است، به طوری که حتی در یک بساک و کیسه گرده وجود همزمان تتراد، دیاد، پلی‌یاد و یاخته‌های حاصل از تقسیمات نامساوی قابل رؤیت است (شکل ۱۸).

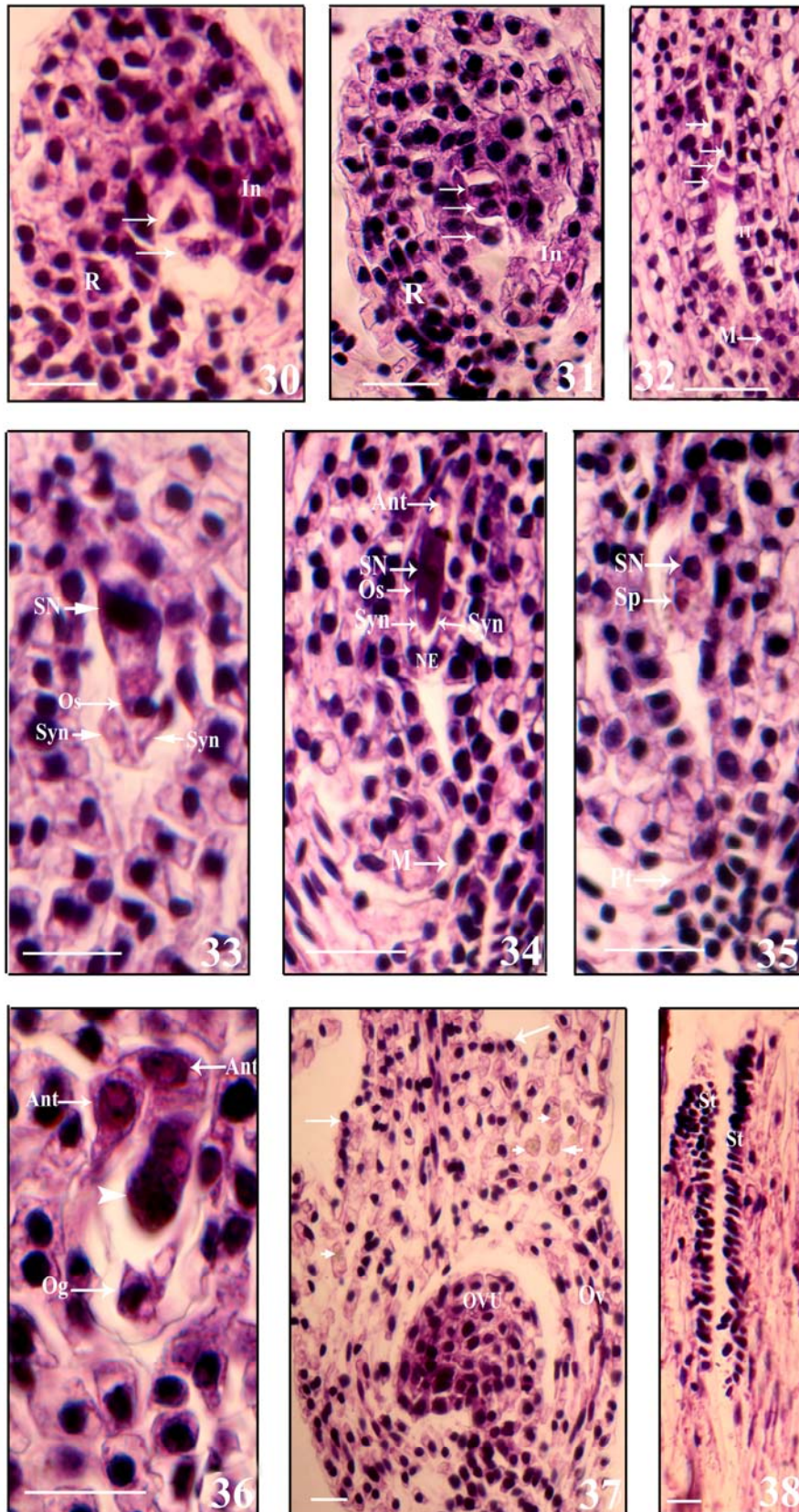
زمانی که میکروسپورها از تتراد رها می‌شوند یاخته‌های لایه تاپی شروع به تحلیل رفتن می‌کنند، به طوری که زمانی که دانه‌های گرده دو یاخته‌ای تشکیل می‌شود آنها کاملاً تجزیه شده‌اند و دیواره بساک تنها شامل لایه مکانیکی است. در مرحله بلوغ دانه‌های گرده، لایه مکانیکی باز هم

در همین زمان لایه‌های تشکیل‌دهنده بساک از تقسیمات یاخته جداری تمایز می‌یابند (شکل ۱). مهمترین لایه بساک لایه تاپی (تغذیه کننده) است که یاخته‌های آن پس از تشکیل و تمایز به تقسیمات هسته‌ای ادامه می‌دهند و حالت چند هسته‌ای پیدا می‌کنند (شکل ۲). هر یاخته میکروسپوروسیت از مراحل میوز به طور واضح عبور می‌کند. تقسیم میوز با تشکیل دیواره ویژه با ماهیت کالوزی در اطراف یاخته‌های میکروسپوروسیت آغاز می‌شود. هر یاخته مادر گرده (میکروسپوروسیت) در طی میوز از مراحل پروفاز I (شکل ۳)، متافاز I (شکل ۴)، آنافاز I (شکل ۵)، تلوفاز I (شکل ۶)، پروفاز II، متافاز II (شکل ۷) II، آنافاز II (شکل ۸) و تلوفاز II (شکل ۹) عبور کرده و در نهایت تترادهای با آرایش تتراهدراول و گاهی تترادهای تتراکونال و خطی را به وجود می‌آورد (شکل ۹). البته در این گونه در کلیه یاخته‌های مورد مطالعه، سیتوکینز از نوع همزمان مشاهده شد.

پس از تکمیل تقسیم میوز و سیتوکینز، با تحلیل لایه کالوزی اطراف تترادها، میکروسپورها (گرده‌های جوان) آزاد می‌شوند (شکل ۱۰). میکروسپورها رها شده دارای سیتوپلاسم متراکم و هسته‌های مشخص قرار گرفته در مرکز یاخته هستند و دارای شکل نامنظم ولی فاقد واکوئل هستند (شکل ۱۰). سپس آگزین شروع به نمو نموده و بعد یک واکوئل بزرگ سیتوپلاسم و هسته را به طرف دیواره می‌راند (شکل‌های ۱۱ و ۱۲). از نظر میزان واکوئل شدن بین میکروسپورها تفاوت زیادی وجود دارد. برخی از آنها کوچکترند و به میزان کمتری واکوئل می‌شوند، در حالی که برخی بزرگتر هستند و به مقدار زیادی واکوئل هستند (شکل ۱۲). از آنجایی که در مراحل بعدی تکوین همه دانه‌های گرده هم اندازه هستند (شکل‌های ۱۳-۱۷)، احتمالاً میکروسپورهای بزرگ واکوئل شده، در مراحل بعدی تکوین از بین می‌روند. در برش تهیه شده از برخی از بساک‌ها پدیده Nemec مشاهده شد (شکل ۱۳)، یعنی همان ساختاری که در آن در داخل گرده تقسیمات یاخته‌ای

به رشد و ضخیم شدن خود ادامه می‌دهد، سرانجام یاخته-  
های آن می‌میرند و با شکافته شدن این لایه به دانه‌های





شکل‌های ۱۹-۳۸) مراحل تکوین تخمک در *Anthemis odontostephana* Boiss. var. *odontostephana* (۱۹) برش طولی از غنچه گل که نشان‌دهنده تکوین پرچم‌ها و مادگی است. در قاعده مادگی پریموردیوم تخمک (po) قابل رؤیت است. (۲۰) برش طولی پریموردیوم تخمکی در مراحل اولیه که همه یاخته‌های آن یکنواخت است و هنوز تمایز پیدا نکرده‌اند. (۲۱) برش طولی پریموردیوم تخمکی که تعدادی از یاخته‌های آن برای تشکیل آرکنوسپور از بقیه متمایز شده است. (۲۲) برش طولی تخمک که فقط یکی از آرکنوسپورها باقی می‌ماند و بقیه تحلیل می‌روند. (۲۳) تخمک جوان در حال تکوین، تشکیل پوسته تخمک و یاخته آرکنوسپور دیده می‌شود. (۲۴) برش طولی از تخمک جوان با یاخته مادر مگاسپور و پوسته تخمکی در حال تشکیل است. تشکیل لایه کالوزی در اطراف مگاسپوروسیت (یاخته مادر مگاسپور) دیده می‌شود. (۲۵) یاخته‌های حاصل از اولین تقسیم میوزی (دیاد) (↑↑). (۲۶) تخمک در مرحله تتراد خطی، وجود کریستالها در قسمت بالایی دیواره تخمدان مشهود است. (۲۷) تتراد توده‌ای. (۲۸) تتراد T شکل. (۲۹) برش طولی تخمک با مگاسپور عملکردی سفتی. (۳۰) کیسه رویانی دو هسته‌ای، کرک‌های ترش‌چی دو یاخته‌ای در دیواره تخمدان دیده می‌شود. (۳۱) برش طولی تخمک نشان‌دهنده کیسه رویانی چهار هسته‌ای. (۳۲) برش طولی تخمک نشان‌دهنده کیسه رویانی چهار هسته‌ای است. هر هسته با یک پیکان نشان داده شده است (۳۳ و ۳۴). برش طولی از کیسه رویانی بالغ و دستگاه تخم متشکل از یاخته تخم‌زا و قرینه‌ها در مجاورت مجرای سفت، و هسته‌های قطبی نیز قابل رؤیت است. (۳۵) تلفیق هسته‌های قطبی در مجاورت دستگاه تخم و تشکیل هسته ثانویه دیده می‌شود. (۳۶) تقسیم در یاخته‌های آنتی‌پود که موجب افزایش تعداد آنها شده است. (۳۷) نمای کلی مادگی و تخمک درون آن. کریستالها در یاخته‌های بالایی دیواره آن مشخص است. نوشجای نیز در این شکل با پیکان مشخص شده است. (۳۸) کلاله دو شاخه با سطح پوشیده از یاخته‌های ترش‌چی.

**مخفف‌ها:** Ov، دیواره تخمدان؛ A، آرکنوسپور؛ In، پوسته تخمک؛ Sty، خامه؛ Po، پریموردیوم برچه؛ Ca، برچه؛ Tr، کرک؛ Pe، گلبرگ؛ An، بساک؛ fine، مگاسپور عملکردی؛ En، اندوتلیوم؛ Me، مگاگامتوسیت؛ M، مجرای سفت؛ R، رافه؛ Og، دستگاه تخم؛ os، تخم‌زا؛ syn، قرینه‌ها؛ ant، آنتی پوده؛ pn، هسته‌های قطبی؛ Sn، هسته ثانویه.

تکوین تخمک و کیسه رویانی: بعد از تشکیل پریموردیوم پرچم، توده مرستیمی مرکزی برای تشکیل مادگی اختصاص می‌یابد (شکل ۱۹)، بدین صورت که تشکیل مادگی کمی پس از تشکیل پرچم است. با رشد مادگی قبل از اتمام تکوین پرچم، پریموردیوم تخمکی به صورت توده‌ای کوچک دیده می‌شود که پریموردیوم تخمکی در فضای برچه با توجه به برچه قابل رؤیت است (شکل ۱۹).

تکوین تخمک و کیسه رویانی: بعد از تشکیل پریموردیوم پرچم، توده مرستیمی مرکزی برای تشکیل مادگی اختصاص می‌یابد (شکل ۱۹)، بدین صورت که تشکیل مادگی کمی پس از تشکیل پرچم است. با رشد مادگی قبل از اتمام تکوین پرچم، پریموردیوم تخمکی به صورت توده‌ای کوچک دیده می‌شود که پریموردیوم تخمکی در فضای برچه با توجه به برچه قابل رؤیت است (شکل ۱۹).

تکوین تخمک و کیسه رویانی: بعد از تشکیل پریموردیوم پرچم، توده مرستیمی مرکزی برای تشکیل مادگی اختصاص می‌یابد (شکل ۱۹)، بدین صورت که تشکیل مادگی کمی پس از تشکیل پرچم است. با رشد مادگی قبل از اتمام تکوین پرچم، پریموردیوم تخمکی به صورت توده‌ای کوچک دیده می‌شود که پریموردیوم تخمکی در فضای برچه با توجه به برچه قابل رؤیت است (شکل ۱۹).

تکوین تخمک و کیسه رویانی: بعد از تشکیل پریموردیوم پرچم، توده مرستیمی مرکزی برای تشکیل مادگی اختصاص می‌یابد (شکل ۱۹)، بدین صورت که تشکیل مادگی کمی پس از تشکیل پرچم است. با رشد مادگی قبل از اتمام تکوین پرچم، پریموردیوم تخمکی به صورت توده‌ای کوچک دیده می‌شود که پریموردیوم تخمکی در فضای برچه با توجه به برچه قابل رؤیت است (شکل ۱۹).

تکوین تخمک و کیسه رویانی: بعد از تشکیل پریموردیوم پرچم، توده مرستیمی مرکزی برای تشکیل مادگی اختصاص می‌یابد (شکل ۱۹)، بدین صورت که تشکیل مادگی کمی پس از تشکیل پرچم است. با رشد مادگی قبل از اتمام تکوین پرچم، پریموردیوم تخمکی به صورت توده‌ای کوچک دیده می‌شود که پریموردیوم تخمکی در فضای برچه با توجه به برچه قابل رؤیت است (شکل ۱۹).



و بافت آلبومن را بنیان‌گذاری می‌کند. به دنبال لقاح یاخته تخم‌زا با یکی از اسپرم‌های لوله‌گرده و تشکیل یاخته تخم، با تقسیمات یاخته تخم رویان کروی شکل ایجاد می‌شود و شروع به تکوین می‌کند (شکل ۳۶). در این مراحل در داخل یاخته‌های دیواره تخمدان، کریستال‌های احتمالا با ماهیت اگزالات کلسیم قابل رؤیت است (شکل ۳۷). کلاله در گیاه مورد مطالعه همانند سایر گیاهان تیره آفتاب‌گردان دوشاخه و سطح آن پوشیده از کرک‌های ترش‌حی است و قبل از اتمام رشد مادگی کلاله بسته بوده و دو سطح پذیرنده کلاله در مجاورت هم قرار می‌گیرند (شکل ۳۸).

### بحث و نتیجه‌گیری

**بساک و دانه‌گرده:** در گونه مورد مطالعه، نمو چهار لایه‌ای دیواره بساک بر اساس تیپ دولپه‌ای انجام می‌شود (۱۲)، (۱۳). یاخته‌های آرکتوسپوری با سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم خودشان قابل تشخیص هستند. این یاخته‌ها به صورت مماسی تقسیم شده، یاخته دیواره بیرونی و هاگ‌زای درونی را تشکیل می‌دهند (۴۱). ضخیم‌شدگی‌های فیبری لایه مکانیکی در مرحله پایانی نمو دانه‌های گرده انجام می‌شود که این ضخیم‌شدگی‌ها با مشاهدات میکروسکوپی به خوبی قابل تشخیص است که با گزارش‌های پیشین همسو نمی‌باشد (۴۲). بر اساس نتایج ما در گونه مورد مطالعه، لایه میانی نمو پیدا می‌کند و بساک دارای چهار لایه است که با برخی گزارش‌های قبلی به وسیله Ranganaswamy و Pullaiah (۳۱) در گیاهان این تیره همسو است. همبستگی آشکاری بین تقسیمات میوزی در یاخته‌های مادر گرده و نمو لایه تاپی بساک وجود دارد که برای سایر گونه‌های این تیره نیز گزارش شده است (۳۵). یاخته‌های لایه تاپی چند هسته‌ای هستند، همچنین هسته‌ها درجه بالایی از پلوئیدی را نشان می‌دهند که نمایانگر فعالیت متابولیسمی بالای آنهاست و از این نظر شبیه به یاخته‌های آنتی‌پود کیسه رویانی هستند (۱۶، ۲۶). در نهادانگان دو تیپ اصلی نمو لایه تاپی بساک قابل تشخیص است (۲۹): ترش‌حی

شود که آغازگر پدیده مگاکامتوزن است و اولین مرحله از تولید کیسه رویانی هشت هسته‌ای است (شکل ۲۹). اولین مرحله برای تبدیل مگاسپور زایا به کیسه رویانی افزایش حجم این یاخته می‌باشد، به این ترتیب حجم این یاخته تا چندین برابر یاخته‌های بافت خورش افزایش می‌یابد و شکل کیسه ماندی پیدا می‌کند، سپس هسته در موقعیت مرکزی مستقر می‌شود که نشانه آماده شدن آنها برای تقسیم است. بتدریج بین یاخته مادر کیسه رویانی و یاخته‌های خورش مجاور فضای روشنی شکل می‌گیرد (شکل ۲۹). هسته یاخته مادری کیسه رویانی سه تقسیم میتوزی متوالی را انجام می‌دهد. اولین تقسیم مگاکامتوفیت تشکیل دو هسته هاپلوئیدی حجیم (کیسه رویانی دو هسته‌ای) با هستک یا هستک‌های مشخص را موجب می‌گردد (شکل ۳۰). دومین تقسیم میتوزی نیز چهار هسته هاپلوئید و در نتیجه کیسه رویانی چهار هسته‌ای را بوجود می‌آورد (شکل ۳۱)، و در پایان تقسیم میتوزی سوم، همزمان با رشد کیسه رویانی، کیسه رویانی هشت هسته‌ای بوجود می‌آید که البته معمولاً امکان مشاهده هر هشت هسته در یک برش فراهم نیست (شکل ۳۲). بتدریج ۳ تا از هسته‌ها به سمت مجرای سفت مهاجرت می‌کنند و دستگاه تخم (Egg Apparatus) را می‌سازند (شکل ۳۳)، این دستگاه شامل یک یاخته مرکزی به نام تخم‌زا و دو یاخته مجاور یعنی قرینه‌ها (سینرژیدها) است. یاخته تخم‌زا کروی شکل است، و در قطب بنی دستگاه تخم قابل تشخیص است و دو یاخته سینرژید هم تقریباً کروی یا بیضی شکل هستند. در گیاه مورد بررسی یاخته‌های آنتی‌پود تقسیم شده و تعداد آنها افزایش می‌یابد، به طوری که در برش‌های مختلف تعداد آنها بین ۶-۸ متغیر است (شکل ۳۴).

دو هسته قطبی جدا شده از قطب‌های سفتی و بنی در قسمت مرکزی کیسه رویانی قرار می‌گیرند و به سمت دستگاه تخم حرکت می‌کنند (شکل ۳۵) و قبل از لقاح با هم تلفیق می‌شوند و هسته دیپلوئید (هسته ثانویه) را می‌سازند. در این گیاه لقاح تخم ضمیمه قبل از تخم اصلی صورت می‌گیرد

این مواد در بافتهای بین کیسه‌های گرده و یاخته‌های دیواره بساک نیز دیده می‌شود. یکی از ویژگیهای شاخص گونه مورد مطالعه، حضور کریستالهای ستاره‌ای شکل در بافت بین دو کیسه گرده (بافت رابط) و لایه مکانیکی بساک است. Meric و Dane (۲۸) نیز حضور کریستالهای سوزنی شکل اگزالات کلسیم را در گونه *Helianthus annuus* و Meric (۲۷) در برخی گونه‌های طایفه *Inuleae* از تیره *Asteraceae* را گزارش کرده‌اند. از ویژگیهای دیگر شاخص این گونه، وجود پدیده *Nemec* است که به شکل توده‌های نسبتاً بزرگ با ساختار شبیه کیسه رویانی در دانه‌های گرده داخل کیسه‌های گرده است که معمولاً در هر کیسه یک عدد وجود دارد. وجود پدیده *Nemec* در برخی از گیاهان این تیره گزارش شده است (۱۳).

**تکوین تخمک و گامتوفیت ماده:** نتایج این مطالعه نشان داد که در هر تخمدان فقط یک تخمک واژگون کم‌خورش وجود دارد. در لایه زیر اپیدرمی تخمک یک یاخته آرکتوسپوری وجود دارد که با پیشرفت رشد و تکوین تخمک، مستقیماً به یاخته مادر مگاسپور (مگاگامتوسیت) تمایز می‌یابد. موقعیت زیر اپیدرمی یاخته مگاگامتوسیت در سایر گیاهان این تیره نیز گزارش شده است (۲۲). مطالعه بر روی مگاسپورانژ نشان می‌دهد که شکل تترادها در این تیره دارای تنوع بسیار زیادی است. نتایج این پژوهش نشان داد، در گونه مورد مطالعه نیز شکل تترادها تنوع دارد و سه نوع تتراد T شکل، توده‌ای و خطی مشاهده شد. بر اساس مشاهدات ما فراوانی تترادهای با آرایش خطی بیش از انواع دیگر است. البته وجود تترادهای خطی در گیاهان این تیره به وسیله پژوهشگران متعددی گزارش شده است (۲۳، ۲۵، ۳۲). اما وجود تتراد T شکل یک حالت نسبتاً نادر است. مگاسپور شالازی تتراد که به وسیله دیواره کالوزی پوشیده نشده است، موجب تشکیل کیسه رویانی مونوسپوری تیپ پلی‌گونوم می‌شود. سه مگاسپور دیگر که به صورت غیر عملکردی هستند، توسط دیواره کالوزی احاطه شده و نهایتاً تخریب می‌شوند، که بر اساس نظریه‌ای (۳۹) وظیفه

(جداری) و آمیبی (*periplasmodial*). در گیاه مورد مطالعه، لایه تاپی از نوع ترشچی است که در آن تکثیر هسته‌ها صورت گرفته و تعداد هسته‌ها در هر یاخته به دو یا سه افزایش می‌یابد. لایه تاپی آمیبی برای گونه‌های متعددی از تیره *Asteraceae* گزارش شده است (۲۵)، که با این نتایج همسویی ندارد. در گیاه مورد مطالعه، یاخته‌های اولیه هاگزا مستقیماً به یاخته‌های مادر گرده تمایز پیدا می‌کنند که به صورت دو تا سه ردیفه در بخش میانی بساک استقرار دارند. گونه‌های معدودی وجود دارند که استقرار یک ردیفه یاخته‌های مادر گرده را از خود نشان دهند (۲۰). میوز در هر میکروسپورسیت منجر به تشکیل تتراد می‌شود. تترادها بیشتر از نوع تتراهدردال و به ندرت از نوع تتراغونال و خطی هستند. وجود تترادهای تتراهدردال و صلیبی شکل نیز در گیاهان تیره *Asteraceae* گزارش شده است (۲۶). در گونه مورد مطالعه تکوین میکروسپورهای دو کیسه گرده هم‌جوار، در بیشتر مواقع هم‌زمان می‌باشد ولی مواردی نیز مشاهده می‌شود که تکوینشان هم‌زمان نیست و هر کیسه گرده در یک مرحله خاصی از نمو است. میکروسپورها در زمان آزاد شدن از تترادها هیچ واکنشی نداشته، دارای یک سیتوپلاسم متراکم، شکل نامنظم با یک هسته حجیم قرار گرفته در بخش میانی هستند. هسته‌ها با روش میتوز تقسیم شده و دو هسته نابرابر را به وجود می‌آورند که هسته بزرگتر رویشی و هسته کوچک‌تر زایشی است. دومین تقسیم میتوزی در یاخته زایشی رخ می‌دهد و باعث تشکیل دو گامت نر (اسپرم) می‌شود. بنابراین در این گونه سه یاخته گامتوفیت نر یعنی یک یاخته رویشی و دو یاخته زایشی تشکیل می‌شود. دانه گرده در گونه مورد مطالعه به صورت سه یاخته‌ای و سه شیاره دیده شد که مطابق گزارش‌های Pullaiah (۳۱) و Johri و همکاران (۲۲) است که بیان داشته‌اند دانه گرده در گیاهان تیره *Asteraceae* به صورت سه یاخته‌ای است. دانه گرده سه شیاره از خصوصیات دولپه‌ای‌های پیشرفته است (۱). دانه‌های گرده بالغ دارای ذرات نشاسته و قطرات روغنی هستند، همچنین

در تخمک این گونه، بر اثر تغییر شکل یاخته‌های داخلی خورش که بعداً در تماس با کیسه رویانی قرار می‌گیرند، یک لایه از یاخته‌های ترش‌حی به نام آندوتلیوم تشکیل می‌شود که با برخی از گزارش‌های پیشین همسویی دارد (۶). آندوتلیوم در این گونه یک لایه‌ایست. از ویژگی‌های گونه مورد مطالعه تشکیل کریستال‌های بیضوی تا چند ضلعی در قسمت بالایی دیواره تخمدان است که برای اولین بار گزارش می‌شود. از نکات جالب توجه دیگر، این است که در این گونه در سطح مادگی کرکهای تک یاخته‌ای تا چندیاخته‌ای دیده می‌شود که به فراوانی در سطح مادگی پراکنده هستند.

براساس مطالعات مرجع‌شناختی انجام شده، گزارش حاضر اولین گزارش پژوهشی در مورد تکوین پرچم، دانه‌گرده، تخمک و کیسه رویانی در *Anthemis odontostephana* است.

#### سپاسگزاری

این پژوهش با پژوهانه تامین شده توسط معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی سینا انجام شده است. مولفین از حمایت‌های مالی دانشگاه بوعلی سینا تقدیر و تشکر می‌نمایند.

اصلی کالوز در طی مگاسپوروژنز، متوقف کردن عملکرد مگاسپور غیر عملگر است.

مگاسپور پایا، کیسه رویانی هشت هسته‌ای را به وجود می‌آورد که بعد به کیسه رویانی بالغ تمایز می‌یابد. در کیسه رویانی بالغ سه یاخته در مجاورت سفت تمایز می‌یابند که شامل یک یاخته تخم‌زا و دو یاخته قرینه است. در این مطالعه، هر دو یاخته قرینه در کیسه رویانی بالغ قابل مشاهده است. دو هسته آزاد قطبی در بخش میانی کیسه رویانی قرار دارند که به سمت دستگاه تخم مهاجرت می‌کنند که تلفیق آنها در مجاورت دستگاه تخم صورت می‌گیرد و باعث تشکیل هسته ثانویه می‌شود. البته زمان ترکیب هسته‌های قطبی با توجه به الگوی نمودی کیسه رویانی می‌تواند متفاوت باشد (۱۷، ۲۱)، که در نمونه مورد مطالعه این عمل قبل از لقاح است. در این گیاه، تقسیمات تخم ضمیمه قبل از تخم اصلی آغاز می‌شود. در کیسه رویانی تیپ پلی‌گونوم، یاخته‌های آنتی‌پود در قطب مقابل دستگاه تخم قرار دارند که معمولاً سه عدد هستند و از نظر اندازه (۷، ۲۶، ۴۰) و همچنین از نظر تعداد (۳۲)، در گونه‌های مطالعه شده این تیره تنوع نشان داده‌اند. بر اساس نتایج حاضر افزایش یاخته‌های آنتی‌پود از اختصاصات گیاه مورد پژوهش است.

#### منابع

۱. باتی‌گینا، تی. بی. ۱۳۸۷. رویان‌شناسی گیاهان گلدار. ترجمه رضا نژاد، ف. و چهارگانی راد، ع. انتشارات دانشگاه شهید باهنر، کرمان.
۲. چهارگانی راد، ع.، حسینی، ن.، ناظمی، م. و لاری یزدی، ح. ۱۳۸۹. بررسی ویژگی‌های تکوینی دانه‌گرده و تخمک در *Centaurea iberica* Trevir. ex Spreng. مجله زیست‌شناسی گیاهی، ۶۳-۷۴: ۲.
۳. چهارگانی راد، ع.، زارع، ش. و حاجی صادقیان، س. ۱۳۸۹. رویان‌زایی در *Tripleurosperm disciforme*: تیپ جدید و نادر از رویان‌زایی. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۳: ۲۶-۳۴.
۴. ربیعی، م.، عصری، ی.، حمزه، ب. و جلیلی، ع. ۱۳۸۸. فلور رویشگاه‌های *Artemisia sieberi* در ایران. مجله زیست‌شناسی ایران، ۲۲: ۶۴۵-۶۶۰.
۵. قهرمان، ا. ۱۳۷۳. کورموفیت‌های ایران (جلد ۴-۱). مرکز نشر دانشگاهی. تهران.
6. Arekal, G. D. 1963. Embryological studies in Canadian representatives of the tribe Rhinanthae and Scrophulariaceae. Canadian J. Bot. 41:267-305.
7. Cameron, B. G. and Prakash, N. 1994. Variations of the megagametophyte in the Papilionoidea. Advances in legume systematics Struct. Bot. 6: 97-115

8. Chaudhury, A. M., Koltunow, A., Payn, T., Luo, M., Tucker, M. R., Dennis, E. S. and Peacock, W. J. 2001. Control of early seed development. Annual review of cell and developmental biology. 17: 677-699.
9. Chehregani, A., Mohsenzadeh, F. and Tanaomi, N. 2011. Comparative study of gametophyte development in the some species of the genus *Onobrychis*: Systematic significance of gametophyte futures. *Biologia*. 66: 229-237.
10. Chehregani, A. and Mehanfar, N. 2008. New chromosome counts in the tribe Anthemideae (Asteraceae) from Iran. *Cytologia*. 73: 189-196.
11. Cichan, M. A. and Palser, B. F. 1982. Development of normal and seedless achenes in *Cichorium intybus* (Compositae). *American J. Bot.* 69: 885-895.
12. Davis, G. L. 1964. Embryological studies in the Compositae. IV. Sporogenesis, gametogenesis, and embrogeny in *Brachycome ciliaris* (Labill). *Australian J. Bot.* 12: 142-151.
13. Davis, G. L. 1968. Apomixis and abnormal anther development in *Calotis lappulacea* Benth. (Compositae). *Australian J. Bot.* 16: 1-17.
14. Funk, V. A., Susanna, A., Stuessy, T. and Bayer, R. (eds.), 2009. Systematics, Evolution and Biogeography of the Compositae. International Association for Plant Taxonomy, Washington D. C.
15. Funk, V.A., Bayer, R.J., Keeley, S., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer B., Schilling, E., Panero, J.L., Baldwin, B.G., Garcia-Jacas, N., Susanna, A. and Jansen, R.K. 2005. Everywhere but Antarctica: using a super tree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biol. Skr.* 55: 343-374.
16. Gotelli, M. M., Galati, BG and Medan, D. 2008. Embryology of *Helianthus annus* (Asteraceae). *Ann. Bot. Fennici*. 45: 81-96.
17. Haig, D. 1990. New perspectives on the angiosperm female gameto- phyte. *Bot. Rev.* 56: 236-274.
18. Harling, G. 1951. Embryological studies in the Compositae: Anthemideae-Chrysantheminae. *Acta Horticulture Bergiani*. 16: 1-56.
19. Heywood, V.H. and Humphries, C.J. 1977. Anthemideae. Syst- ematic review. In: Heywood VH, Harborne JB, Turner BL, eds. *The biology and chemistry of the Compositae*, Vol. II. London, New York, San Francisco: Academic Press. pp851-898.
20. Hu, S.Y. 1982. Embryology of angiosperms. High Education Press, Beijing.
21. Huang, B. Q. and Russell, S. D. 1992. Female germ Unit: Organization, isolation and function. *International Review of Cytology*. 140: 233-292.
22. Johri, B. M., Ambegaokar, K. and Srivastava, P. S. 1992. Comparative Embryology of Angiosperms. Springer-Verlag. Berlin. Germany.
23. Kapil, R. N. and Bhatnagar, A. K. 1981. Ultrastructure and biology of female gametophyte in flowering plants. *Cytology*. 70: 291-337.
24. Khan, A. L., Gilani, S. A., Fujii, Y. and Watanabe, K. N. 2008. Monograph on *Inula britannica* L. Mimatsu Corporation, Tokyo.
25. Lakshmi, S. P. and Pullaiah, T. 1979. Embryology of *Senecio tenuifolius* Burm. f. (Asteraceae). *Taiwania*. 32: 208-213.
26. Maheshwari, J. K. 1950. An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill, New York.
27. Meric, C. 2009. Calcium oxalate crystals in some species of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 51: 105-110.
28. Meric, C. and Dane, F. 2004. Calcium oxalate crystals in floral organs of *Helianthus annulus* L. and *H. tuberosus* L. (Asteraceae). *Acta Biologica Szegediensis*. 48:19-23.
29. Pacini, E., Franchi, G. G., and Hesse, M. 1985. The tapetum: its form, function and possible phylogeny in Embryophyta. *Plant System and Evolution*. 149:155-185.
30. Pandey, P. B. 2004. A textbook of botany angiosperms, taxonomy, anatomy, embryology, Baraut., pp. 303-311.
31. Pullaiah, T. 1979. Embryology of *Adenostemma*, *Elephantopus* and *Vernonia* (Compositae). *Botanica Notiser*. 32: 51-56.
32. Rangaswamy, V. and Pullaiah, T. 1986. Studies in the embryology of *Senecio candicans* Dc. (Compositae). *J. Indian Botanical Society*. 65: 509-512.
33. Richards A. J., 1997. Plant breeding systems. Chapman and Hall.
34. Shamrov, I. 1998. Ovule classification in flowering plants- new approach and concepts. *Botanische Jahrbucher fur Systematik*. 120: 37-44.
35. Steil, W. N. 1950. Some Evidences for the Interaction of Tapetal and Sporogenous Cells in Certain Vascular Plants. *Botanical Gazetti*. 111: 300-306.

36. Torrell, M., Bosch, M., Martin, J. and Vallès, J. 1999. Cytogenetic and isozymic characterization of the narrow endemic species *Artemisia molinieri* (Asteraceae, Anthemideae): Implications for its systematic and conservation. *Canadian J. Bot.* 77: 51-60.
37. Vallès J., Garnatje, T., Garcia, S., Sanz, M. and Korobkov, A. A. 2005. Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae) in Kazakhstan. *Botanical J. Linean Society.* 148: 77-85.
38. Vallès, J., Torrell, M., Garcia-Jacas, T., Vilatersana, N. and Susanna, A. 2003. The genus *Artemisia* and its allies: phylogeny of subtribe Artemisiinae (Asteraceae) based on nucleotide sequence on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS). *Plant Biol.* 5: 274-278.
39. Webb, M.C. and Gunning, B.E.S. 1990. Embryo sac development in *Arabidopsis thaliana*: Megasporogenesis, including the microtubular cytoskeleton. *Sex. Plant Reprod.* 3: 244-256.
40. Xiao, D. X. and Yuan, Z. 2006. Embryogenesis and seed development in *Sinomanglietia glauca* (Magnoliaceae). *J. Plant Res.* 119: 163-166.
41. Xue, C.Y. and Li, D.Z. 2005. Embryology of *Megacodon stylophorus* and *Veratrilla baillonii* (Gentianaceae): Descriptions and systematic.
42. Yurukova-Grancharova, P., Robeva-Davidova, P. and Vladimirov, V. 2006. Study on the embryology and mode of reproduction of selected diploid species of *Hieracium* (Asteraceae) from Bulgaria. *Flora.* 201: 668-675.
43. Zhao, Y. M., Zhang, M. L., Shi, Q. W. and Kiyota, H. 2006. Chemical constituents of plants from the Genus *Inula*. *Chemical Biodiversity.* 3: 371-384.

## **Developmental stages of pollen and ovule in *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. Odontostephana**

**Chehregani Rad A.K., Mohsenzadeh F. and Ghafouri S.**

**Laboratory of Plant Cell Biology, Biology Dept., Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran**

### **Abstract**

The study of reproductive organs development is important in taxonomy and developmental biology. In this research, developmental process of ovule and pollen grains were studied in *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. Odontostephana. The flowers and buds, in different developmental stages, were collected from the natural habitats, fixed in FAA<sub>70</sub>, stored in ethanol 70%, embedded in paraffin wax and sliced at 7-10 μm with a microtome. Staining was carried out with Hematoxylin and Eosine. According to results of this study, anthers are tetrasporangiate and development of anther wall is of dicotyledonous type and composed of one-layered epidermis, an endothecium, one middle layer and tapetum. Tapetum layer indicated high polyploidy level that necessary for metabolism and it is of the secretory type at the beginning and plasmodial type at the final stages of development. Microspore tetrads are tetrahedral, in the main, and tetragonal or linear in some cases. Pollen grains are three colpate with echinate sculpturing, at the shedding time. The size of some microspores increased and it seems that they showed Nemec phenomenon. Presence of asteroid crystals in the cells of endothecium layer and connective tissue is the characteristic of this species. Ovule is anatropous, unitegmic and tenuicellate. Cell division of megaspore mother cells is of both longitudinal and transverse type and resulted to form linear, T-shaped or massive tetrads. Embryo sac development is of the *Polygonum* type and antipodal cells increase up to 6-8 and their nuclei become polyploidy. The polar cells are migrated toward egg apparatus and fused prior to fertilization. Formation of ovate to polygonal crystals is the characteristic of this species.

**Key words:** *Achillea odontostephana*, Asteraceae, Pollen grain, Ovule, Microsporogenesis, Megasporogenesis