# بررسی مراحل تکوین بساک و دانه گرده در گل اطلسی (*Petunia hybrida* juss.)

**عبدالکریم چهرگانی و حسن رمضانی***

**همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی**

تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۹

## چکیده

در این پژوهش ویژگی‌های تکوینی بساک و دانه گرده *Petunia hybrida* مورد بررسی قرار گرفت. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در $FAA_{70}$ تثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شد. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین با میکروتوم برش‌گیری گردید. رنگ‌آمیزی مضاعف به کمک هماتوکسیلین و ائوزین الکلی انجام شد. نتایج نشان داد که هر بساک دارای ۴ کیسه گرده است که تحت تأثیر پیشروی بافت پلاستوئید هلالی شکل شده‌اند. الگوی تشکیل لایه‌های یاخته‌ای جداره بساک از نوع کلاسیک دولپه‌ای بوده و لایه مغذی ترشحی آن در بخش بیرونی و درونی کیسه گرده متفاوت می‌باشد. تترادهای میکروسپور از نوع چهارضلعی (تتراهدرال) است. دانه‌های گرده بالغ در منظره قطبی و استوایی به‌ترتیب کروی و دوکی شکل بوده و نسبت به محور طولی بساک استقرار منظمی در کیسه‌های گرده دارند. دانه‌های گرده در زمان انتشار دو یاخته‌ای هستند. با تمایزیابی یاخته‌های اپیدرمی بساک، استومیوم به شکل یک ناحیه تک‌یاخته‌ای تشکیل می‌شود (جایگاهی که تعیین‌کننده موقعیت شکوفایی بساک می‌باشد). در مراحل نهایی بلوغ دانه‌های گرده بافت نامتعارفی در سپتوم بساک تشکیل شده و باعث تغییر شکل کیسه‌های گرده می‌شود.

**واژه‌های کلیدی**: *Petunia*، میکروسپورزایی، دیواره بساک، شکوفایی بساک، Solanaceae

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱-۳۸۲۵۷۴۰۲ ، پست الکترونیکی: hassanramezanyic@yahoo.com

## مقدمه

زیست‌شناسی تکوینی تولیدمثلی که بررسی مراحل مختلف تکوین گل یعنی اندام‌زایی و تکوین پرچم، دانه گرده، مادگی، تخمک و گامتوفیت ماده را شامل می‌شود، در سال‌های اخیر به طور چشم‌گیری مورد توجه قرار گرفته است (۱). توسعه علم زیست شناسی تکوینی و مطالعه چگونگی و مراحل تکوین اندام‌های تولیدمثلی، جهت درک و تلاش برای بقای گیاهان، به ویژه گیاهان نادر و در حال انقراض و همچنین گیاهان ارزشمند در بخش کشاورزی و باغبانی ضروریست (۵۰).

مراحل نموی پرچم در اثر یک برهم‌کنش هماهنگ و پیچیده بین بافت‌های اسپوروفیت و گامتوفیت ایجاد می‌شود (۵۷). بساک بخش زایای پرچم است که در آن میکروسپورانژها وجود دارند و فرایند میکروسپورزائی، تشکیل و بلوغ دانه گرده رخ می‌دهد، میکروسپورزائی فرایندی است که در آن میکروسپورها از یاخته‌های مادر گرده در حال میوزی درون میکروسپورانژ (هاگدان نر) تشکیل می‌شوند (۱). دانه گرده، (گامتوفیت نهاندانگان) در طی مراحل تکوینی برنامه‌ریزی شده از یاخته‌های مادر گرده بوجود می‌آید، که توسط تاپی، داخلی‌ترین لایه یاخته‌ای دیواره بساک حمایت می‌شود (۳۸). گرده‌ها و تاپی بر اساس الگوهای خاصی، که برای هر خانواده تیپیک می‌باشد، بوجود می‌آیند. در حالت بالغ، گرده‌ها توسط اسپورودرم (اگزین و انتین) که نقش مهمی نیز در کنترل تبادل رطوبت با محیط و برهم‌کنش گرده با کلاله دارند، محافظت می‌شوند (۱۹، ۷، ۱۶ و ۵۱). دیواره بساک توسط تعداد بخصوصی از لایه‌های یاخته‌ای که در مراحل اولیه

تکوینی نظم می‌یابند، شکل می‌گیرد. داویس (۱۹۶۶) الگوهای متفاوتی از آغاز تقسیمات یاخته‌ای در اولین دو لایه هیپودرمی، که لایه‌های دیواره‌ای ثانویه نامیده شده مشاهده کرد. بر اثر این تقسیمات همه لایه‌های دیواره شکل می‌گیرند.

خصوصیات ریختی گامتوفیت نر و جزئیات میکروسپور-زائی می‌توانند در مطالعات سیستماتیکی برای تعیین محدوده تاکسون‌ها استفاده شوند. از نظر تاکسونومیکی بعضی صفات تاکسونومیکی نظیر تنوع در تعداد لایه‌های بساک، نوع تاپی، آرایش تترادها در میان دیواره کالوزی، تعداد منافذ و شکاف‌های گرده‌ها، دو یا سه یاخته‌ای بودن دانه گرده و تعداد هسته‌های تاپتوم دارای اهمیت هستند (۳۱، ۳۲، ۲۰ و ۲۴).

جنس اطلسی متعلق به زیر خانواده Cestroideae، بومی آمریکای جنوبی بوده و در زیر مدار رأس سرطان در محدوده $22^{o}$ تا $39^{o}$ جنوبی گسترده شده است (۲۲). بیشتر گونه‌های این جنس یکساله هستند. *Petunia hybriad* بهترین اطلسی باغچه‌ای شناخته شده، یک گونه تزئینی است که به طور گسترده در اکثر نقاط زمین کشت می‌شود. این کشت‌ها دارای تنوعی گسترده از رنگ و اندازه گل‌ها بوده و تجارت دانه‌هایشان در حال حاضر یک منبع اقتصادی مهم برای بسیاری از کشورهاست. مطالعات تکوینی و رویان شناختی انجام شده در تیره Solanaceae محدود بوده و در این خصوص می‌توان به بررسی نحوه تشکیل دیواره بساک (۹)، بررسی‌مورفولوژی دانه گرده (۳۹) و رویان‌زائی در *Withania somnifera*(۲۳) اشاره کرد. بر اساس مطالعات مرجع‌شناختی ما پژوهش‌های تکوینی محدودی در خصوص تشکیل بساک و دانه گرده این گونه زینتی انجام شده است (۴۴)، اما در همین پژوهش‌های محدود نیز بسیاری از جزئیات تکوینی از جمله الگوی تشکیل دیواره بساک، بلوغ دانه گرده و نحوه شکوفائی بساک نادیده گرفته شده است. هدف اصلی این مقاله بررسی دقیق این خصوصیات و تطبیق نتایج حاصل با مطالعات تکوینی انجام شده در این خانواده به منظور شناخت بهتر خصوصیات تکوینی و هستی‌زایی آن می باشد.

## مواد و روشها

مراحل آماده‌سازی نمونه‌ها برای مطالعات تکوینی و رویان شناختی بشرح ذیل می‌باشد:

الف) تهیه و کشت بذر: بذور مربوطه از شرکت پاکان بذر واقع در استان اصفهان خریداری شده و در شرایط گلخانه (دمای $27\pm4^{o}C$، رطوبت ۷۰ درصد و دوره روشنایی ۱۵ ساعت) در گلخانه دانشگاه بوعلی سینا کشت و نگهداری شدند.

ب) جمع آوری و تثبیت نمونه‌ها: به منظور مطالعه رویان شناختی *Petunia hybrida*، گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نموی برداشت شده و در محلول تثبیت‌کننده $FAA_{70}$ (فرمالدئید، استیک اسید، الکل اتیلیک ۷۰٪ با نسبت ۱۸:۱:۱) تثبیت شدند. نمونه‌ها پس از ۲۴ ساعت تثبیت، با آب شستشو داده شده تا محلول تثبیت‌کننده از آنها خارج شود، سپس نمونه‌ها در الکل۷۰ درجه در یخچال و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

ج) آب‌گیری و شفاف سازی: به منظور آماده کردن نمونه‌ها برای برش‌گیری، آنها را از الکل‌های با درجات افزایشی (۷۰، ۸۰، ۹۰، ۹۶ و ۱۰۰) عبور دادیم تا آب‌گیری شوند. سپس نمونه‌ها به ترتیب در محلول‌های (۲حجم الکل،۱حجم تولوئن)، (حجم‌های مساوی از الکل و تولوئن)، (۱حجم الکل،۲حجم تولوئن) و تولوئن خالص قرار داده شد تا تولوئن جایگزین الکل شود.

د) قالب‌گیری و برش‌گیری: در نهایت نمونه‌ها دو بار در حمام پارافین قرار داده شده تا پارافین جایگزین تولوئن شود و بعد نمونه‌ها در پارافین مذاب قالب‌گیری شدند (۲). پس از قالب‌گیری و آماده کردن قطعات پارافینی حاوی

نمونه، نمونه‌ها با میکروتوم دستی، با ضخامت ۷ میکرومتر برش‌گیری گردیدند.

و) پارافین‌زدائی و رنگ‌آمیزی مضاعف: برای آماده کردن مقاطع برای رنگ‌آمیزی لازم است تا پارافین اطراف نمونه و درون بافت حذف شود. بدین منظور لام‌ها به مدت ۱۵–۲۰ دقیقه درون جار رنگ‌آمیزی دارای تولوئن خالص قرار داده شد. با استفاده از محلول‌های الکلی با درجات کاهشی (۱۰۰، ۹۶، ۹۰، ۸۰، ۷۰ و ۵۰) و در نهایت آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه، آب‌گیری نمونه‌ها انجام شد. به منظور امکان مطالعه دقیق‌تر نمونه‌ها رنگ‌آمیزی مضاعف هماتوکسیلین–ائوزین انجام گردید. نمونه‌ها به مدت ۳–۵ دقیقه در هماتوکسیلین (۰/۱درصد) قرار گرفتند. سپس تثبیت رنگ توسط آب جاری انجام شد. در مرحله بعدی و به منظور رنگ‌آمیزی با ائوزین، ابتدا لام‌ها با اتانول ۵۰ و ۷۰ درصد، به مدت ۱ دقیقه در هر کدام آب‌گیری شدند و بعد در ائوزین الکلی به مدت ۲۵–۳۰ دقیقه قرار گرفتند (۴۶). در مرحله بعدی با عبور از الکل‌های ۹۰ و ۱۰۰ آب‌گیری شده و در نهایت ۵ دقیقه داخل تولوئن قرار داده شدند.

ه) لامل‌گذاری و عکس‌برداری: لام‌ها به وسیله چسب انتالن لامل‌گذاری و در دمای آزمایشگاه و در مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. عکس‌برداری نیز به کمک میکروسکوپ نوری LABOMED LX500 دارای دوربین دیجیتال LABOMEDiVu3100، در بزرگنمائی‌های مختلف انجام شد. برای هر مرحله حداقل ۱۰ گل برش‌گیری و از بهترین آنها عکس‌برداری شد.

## نتایج

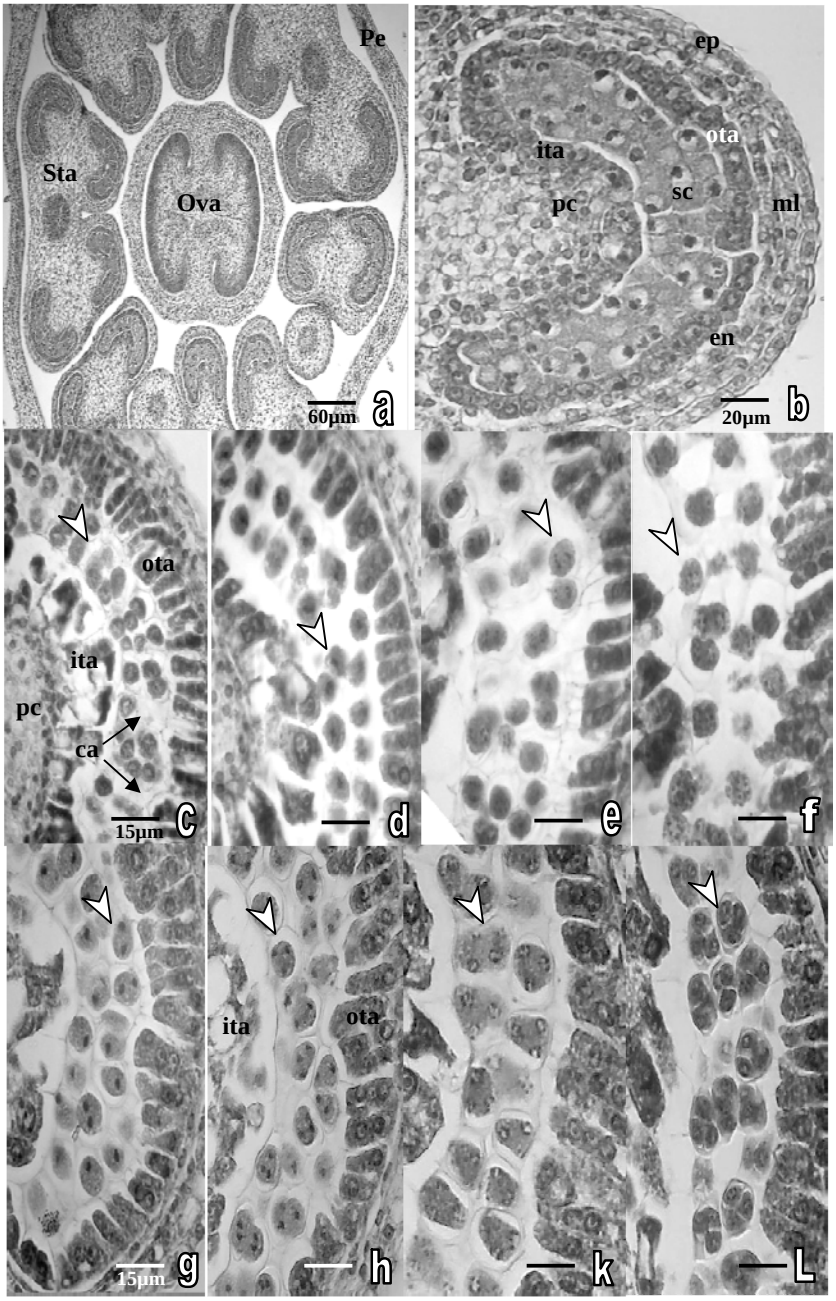
اطلسی گیاهی تک پایه بوده و دارای گل‌های دو جنس می‌باشد که در آن ۵ پرچم با آرایش چرخه‌ای در درون جام گل پیوسته و در اطراف مادگی دو برچه‌ای مستقر شده‌اند (تصویر۱a). بر اساس مطالعات میکروسکوپی هر پرچم دارای بساکی متشکل از دو خانه در دو طرف بخش رابط بوده که هر یک به نوبه خود از دو کیسه گرده تشکیل شده‌اند (تصویر۱a).

در مراحل اولیه نمو بساک، در هر یک از چهار گوشه بساک با انجام تقسیمات مماسی (پری‌کلینال) یاخته‌های جداری اولیه (آرکئوسپور خارجی) که در فاصله بین یاخته‌های بافت هاگزا و اپیدرم بساک قرار دارند، لایه‌های جداری بساک تشکیل می‌شوند. این لایه‌ها از بیرون به داخل به ترتیب شامل: لایه اپیدرم دارای دیواره خارجی کوتینه شده، لایه مکانیکی (آندوتسیال)، لایه میانی که از دو تا سه ردیف یاخته تشکیل شده و لایه مغذی با یاخته‌های حجیم می‌باشد که فضای کیسه‌های گرده را احاطه کرده است (تصویر۱b).

بر اثر تقسیمات مماسی (پری‌کلینالی) یاخته‌های آرکئوسپور داخلی بساک یاخته‌های هاگزا که به شکل چهار هلال در چهار گوشه بساک‌ها رؤیت می‌شوند، بوجود می‌آیند (تصویر۱a). این یاخته‌ها با تقسیمات میتوزی متقاطع خود یاخته‌های مادر گرده را ایجاد می‌کنند.

در بخش درونی کیسه‌های بساک (به سمت بافت رابط)، بیرون‌زدگی بافت پارانشیمی (پلاسنتوئید) که به همراه خود لایه‌های میانی و مغذی درونی را به داخل فضای کیسه هدایت کرده، کاملا مشهود است (تصاویر ۱a,b).

یاخته‌های لایه مغذی از نوع ترشحی بوده و شامل لایه‌های مغذی بیرونی (به سمت اپیدرم) و درونی (به سمت بافت رابط) می‌باشد، این دو لایه از نظر شکل یاخته‌ای، شدت واکوئله شدن و رنگ‌پذیری متفاوت هستند (تصویر۱b). قبل از تقسیمات میوزی یاخته‌های مادر گرده و نیز در هنگام این تقسیمات، یاخته‌های مغذی آندومیتوز کرده و حالت چند هسته‌ای به خود می‌گیرند (تصویر۱b-I).




شکل ۱- مراحل اولیه تکوین بساک، میکروسپورزائی و تشکیل گامتوفیت نر در *Petunia hybrida* .

a) برش عرضی از غنچه با پنج پرچم زایا (sta) به همراه تخمدان (ova) دو برچه‌ای با تمکن محوری را نشان می‌دهد که توسط یک حلقه از گلبرگ-ها (pe) محدود شده‌اند. b) برش عرضی یکی از حفرات بساک چهارحفره‌ای که اجزاء کامل دیواره شامل لایه اپیدرم (ep)، لایه بینابینی (ml)، لایه مکانیکی (en)، لایه مغذی درونی (ita)، یاخته‌های مادر گرده (sc)، لایه تاپی بیرونی (otp) و بافت پلاسنتوئید (pc) در آن مشخص است. c) برش عرضی از بساک که نشان‌دهنده آغاز تقسیم میوز در یاخته‌های مادر گرده است (پروفازI)، در این مرحله تشکیل لایه کالوزی (ca) در دیواره یاخته‌های مادر گرده به صورت یک لایه شفاف مشهود است. d) مرحله متافاز I. e) مرحله آنافاز I. f) مرحله تلوفاز I. g) مرحله متافاز II. h) مرحله آنافاز II. k) مرحله تلوفاز II. l) برش عرضی از بساک در مرحله تشکیل تتراد میکروسپور.

یاخته‌های این لایه پس از تکمیل فرایند میکروسپورزائی، واکوئله شده و بتدریج تجزیه می‌شوند. یاخته‌های مادر گرده تقسیم میوز را در دو مرحله متوالی و با یک سیتوکینز همزمان، مانند حالت کلاسیک قابل مشاهده در اغلب گیاهان دولپه‌ای معمول به انجام می‌رسانند (تصاویر ۱c-l). لایه کالوزی میکروسپورها را کمی پیش از شروع میوز تحت پوشش قرار می‌دهد (تصویر۱c) و این پوشش و حمایت تا تشکیل تترادهای تتراهدرال ادامه می‌یابد، تا آن که با تجزیه این لایه، میکروسپورها از هم جدا شده و با واکوئله شدن سیتوپلاسم و افزایش حجم دو تا سه برابری، تشکیل دانه گرده جوان را می‌دهند. این یاخته‌های نابالغ به کمک لایه تاپی شروع به تکمیل دیواره اگزینی خود کرده و بعد با انجام میتوز، بافت گامتوفیتی دو یاخته‌ای شامل یاخته زایشی کوچکتر و یاخته رویشی بزرگتر را شکل می-دهند تا تبدیل به گرده بالغ شوند (تصاویر۲a-c). در هنگام این تغییرات، لایه‌های مغذی تحلیل رفته و با این کار پیش‌سازهای لازم را فرآهم می‌آورند.

دانه‌های گرده بالغ در منظره قطبی کروی شکل بوده و سه فرورفتگی با فاصله‌های منظم در محیط آن قابل تشخیص است (تصویر ۳l). اما در منظره استوایی، گرده‌ها دوکی شکل دیده شده و یک تا دو شیار از سه شیار موجود در آنها قابل رؤیت است (تصویر۳m). این شیارها در امتداد گرده به طور کامل کشیده شده و نسبتا عمیق هستند.

از نکات قابل توجه در طی تکوین بساک و دانه گرده اطلسی حفظ حالت منظم و هلالی موجود در بافت مادر گرده تا انتهای فرایند میوز می‌باشد. به‌نحوی‌که با وجود رشد کلی بساک و حجیم شدن کیسه‌های گرده، یاخته‌های در حال میوز همچنان و با حفظ نظم در کنار یکدیگر و در مجاورت لایه مغذی خارجی (به سمت اپیدرم بساک)

باقی مانده و از آن جدا نمی‌شوند (تصویر ۲d).

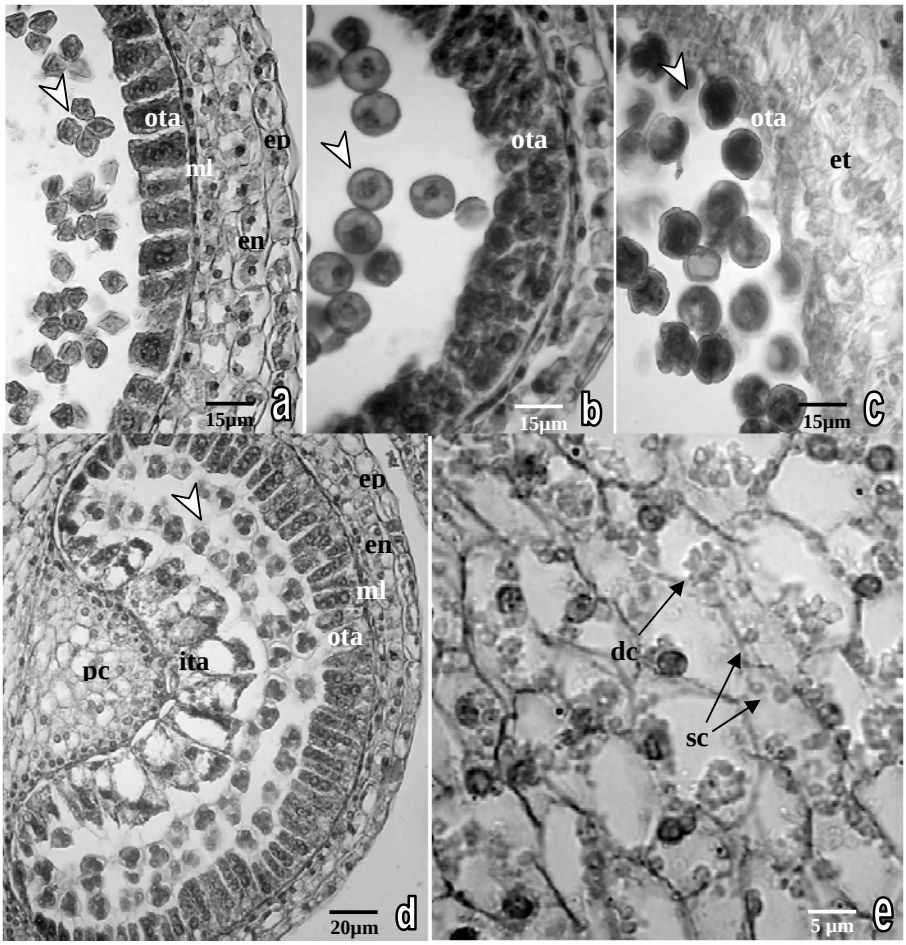
بساک‌ها به رنگ زرد روشن بوده و در تمامی لایه‌های یاخته‌ای آن، بجز بافت‌های آوندی، لایه مغذی و لایه هاگزا، بلورهای اگزالات کلسیم مشاهده می‌شود. بلورها در بخش پارانشیمی اطراف دستجات آوندی بافت رابط اغلب به شکل ستاره‌ای (Druse crystals) و بزرگ بوده و در سایر بافت‌های بساک به صورت ذرات کوچکتر یا بلورهای ماسه‌ای (Sand crystals) هستند (تصویر۲e).

در طی فرایند بلوغ گرده‌ها و پس از عقب‌نشینی بافت پلاسنتوئید (pc) بساک از درون کیسه‌های گرده‌ای، لایه بینابینی (ml)۲-۳ لایه یا به عبارتی لایه میانی بساک در سمت داخل (به سمت بافت رابط)، تقسیمات میتوزی سریعی انجام داده و تشکیل بافت پارانشیمی نامتعارفی را می‌دهد که در چند جهت پیشروی می‌کند. تقسیمات انجام شده در سمت حفرات بساک موجب نفوذ این بافت در فضای درونی کیسه‌های گرده می شود، به نحوی‌که شکل حفرات را از حالت کروی خارج کرده و به حالت استوانه-ای در می‌آورد (تصاویر۳a-c)، در همین زمان تقسیمات در سمت بافت رابط نیز در حال انجام بوده و تا رسیدن این بافت به دستجات آوندی ادامه پیدا می‌کند. این بافت عمر کوتاهی داشته و با تکمیل بلوغ دانه‌های گرده تجزیه شده و در زمان شکوفایی بساک تقریبا" به طور کامل از بین می رود (تصاویر۳d,e). در این مدت، تجمع مواد در دانه-های گرده بالغ موجب افزایش شدت رنگ پذیری در آنها می‌شود (تصاویر۳b-e).

تشکیل فیبرهای ضخیم شونده در لایه اندوتسیوم بساک این گیاه قابل توجه می‌باشد (تصویر۳f). شکفتن کیسه‌های گرده در اطلسی به صورت طولی و با تشکیل شیاری سرتاسری در هر لوب، از محل ویژه‌ای به نام استومیوم (Stomium) در اپیدرم بساک می‌باشد. استومیوم از تمایز یاخته‌های اپیدرمی بساک در مراحل اولیه تکوین بساک، یعنی قبل از انجام تقسیمات میوزی بافت هاگزا بنیان‌گذاری می‌شود (تصویر۳g). در مراحل بعدی یاخته‌های این بافت به شکل طولی کشیده شده و در زمان بلوغ دانه‌های گرده و کمی قبل از شکوفایی بساک دچار مرگ

برنامه‌ریزی شده می‌شوند (تصاویرh,k۳).

از دیگر نکات ممتاز در فرایند تکوین دانه گرده اطلسی، استقرار منظم دانه‌های گرده بالغ در کیسه‌های بساک است. در این گونه گیاهی، محور طولی دانه‌های گرده به موازات محور طولی بساک بوده، به نحوی که در برش طولی بساک، دانه‌های گرده همگی در منظره استوایی و دوکی شکل دیده شده (تصویر ۳m) و در برش عرضی تقریبا" همگی دانه‌های گرده در منظره قطبی بوده و به شکل کروی دیده می‌شوند (تصویر۳l). این نظم تا انتهای بلوغ گرده‌ها و حتی تا زمان شکفتن بساک‌ها حفظ می‌شود.

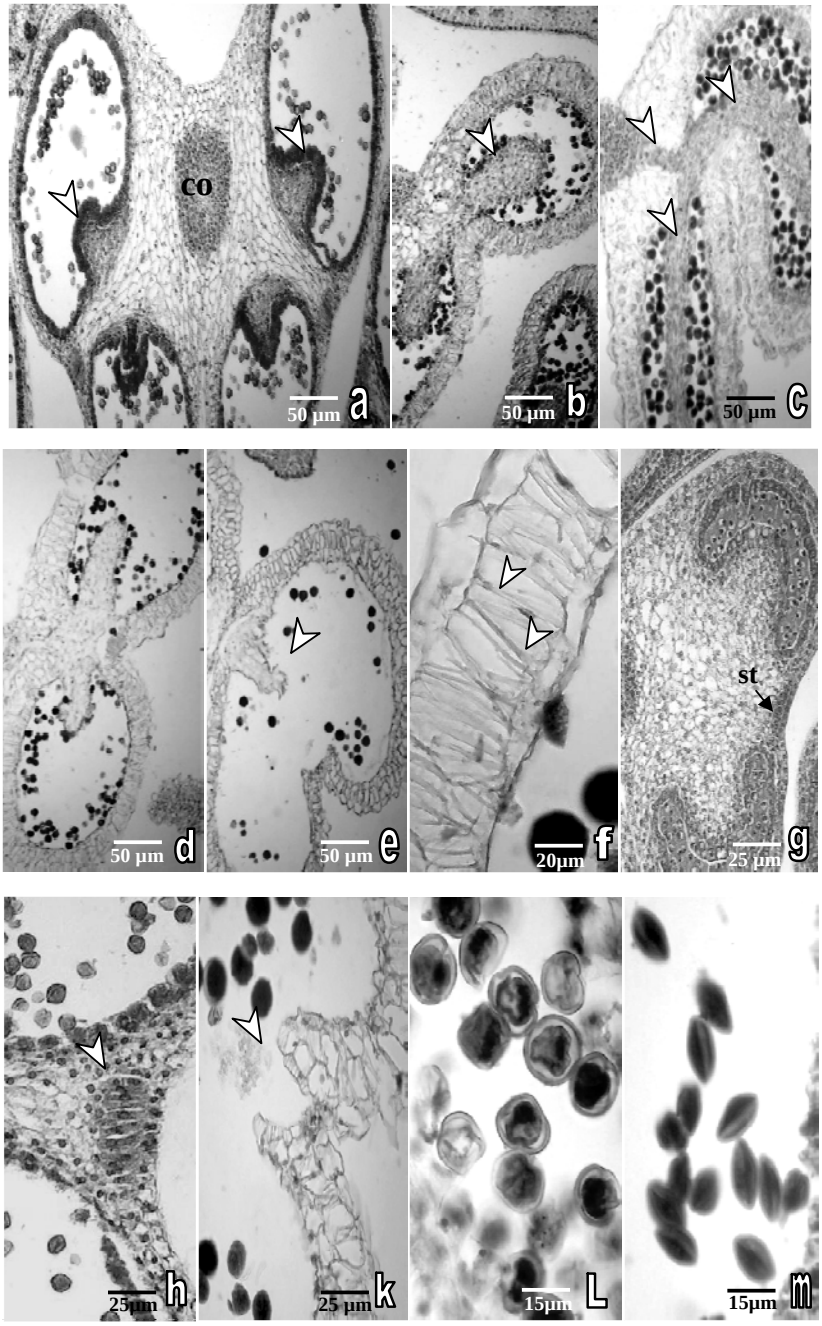



شکل ۲- مراحل بلوغ میکروسپور، دانه گرده بالغ در مناظر قطبی و استوایی و کریستال‌های اگزالات کلسیم

a) مشاهده میکروسپورها در برش عرضی از کیسه گرده اطلسی. b) دانه‌های گرده نابالغ که با جذب آب به شکل کاملا واکوئله و کروی دیده می‌شوند. c) دانه‌های گرده کاملا بالغ که بر اثر تجمع دانه‌های نشاسته در سیتوپلاسم رنگ پذیری‌شان افزایش یافته وتیره‌تر دیده می‌شوند. d) لایه هاگزای بساک تا زمان تشکیل میکروسپورها حالت منظم خود را حفظ می‌کنند. e) بلورهای اگزالات کلسیم به دو شکل ستاره‌ای (dc) و ماسه‌ای (sc) واقع در یاخته-های پارانشیمی بافت رابط بساک. مخففها: ota، لایه مغذی بیرونی؛ ml ، لایه یا لایه‌های بینابینی؛ en، لایه مکانیکی؛ ep، لایه اپیدرم؛ dc، بلورهای اگزالات کلسیمی ستاره‌ای شکل (Druse crystals)؛ sc، بلورهای اگزالات کلسیمی ماسه‌ای شکل (Sand crystals).

## بحث

اندام تولید مثلی نر در گیاه اطلسی شامل پنج پرچم دارای بساک‌های بارور است، به عبارتی آندروزیوم در اطلسی از نوع هموآنتروس می‌باشد، این ویژگی در مقایسه با سایر جنس‌های سولونوم که غالبا هتروآنتروس هستند در تضاد است (۱۸).




شکل ۳- تشکیل و تجزیه بافت نامتعارف، نحوه شکوفایی بساک و استقرار منظم و ثابت دانه‌های گرده در کیسه‌های گرده

a-c) مراحل متوالی تشکیل و پیشروی بافت نامتعارف در فضای کیسه گرده بساک. d,e) چگونگی تجزیه بافت نامتعارف و نقش آن در تحلیل دیواره سپتوم بین حفره‌های بساک و شکوفایی بساک را نشان می‌دهد. f) فیبرهای ضخیم شونده در دیواره یاخته‌های لایه مکانیکی جداره در زمان بلوغ و شکوفایی بساک .g) نمایش محل تشکیل بافت ویژه شکوفایی بساک (st) در لایه اپیدرم و انجام تقسیم مماسی در آن. h) رشد طولی یاخته‌های بافت استومیوم و مرگ برنامه‌ریزی شده آنها. k) بلوغ بافت استومیوم و شکوفایی بساک رسیده به‌منظور پراکنش دانه‌های گرده کاملا بالغ. l) دانه‌های گرده کاملا بالغ در برش عرضی از کیسه گرده، در این وضعیت تقریبا تمامی گرده‌ها در منظره استوایی بوده و به شکل کروی، همراه با سه شیار طولی در فواصل مساوی دیده می‌شوند. m) دانه‌های گرده کاملا بالغ در برش طولی از کیسه گرده که در آن تقریبا تمامی دانه‌ها در منظره استوایی و به شکل دوکی، همراه با شکاف‌های سرتاسری دیده می‌شوند. مخففها: co، بافت رابط بساک؛ st، استومیوم.

نر عقیمی در چندین جنس از خانواده Solanaceae نظیر *Capsicum*، *Datura*، *Lycopersicun*، *Solanum*، *Nicotiana* و حتی بعضی از گونه‌های جنس *Petunia* نیز گزارش شده است (۲۸).

طول پرچم‌ها نیز بر خلاف اکثر گونه‌های دیگر این خانواده که توسط اندرس (۱۹۹۶) گزارش شده یکسان نبوده و یکی از میله‌های بساک کوتاه‌تر است. در مراحل اولیه نمو بساک، پریموردیوم بساک به صورت یک مریستم احاطه شده در اپیدرم است. سپس چهار برجستگی در چهار گوشه بساک مشخص می‌شود. در هر کدام، یک یا چند یاخته زیراپیدرمی به یاخته‌های آرکئوسپور تمایز می‌یابند. تقسیمات مماسی متوالی یاخته آرکئوسپور و یاخته‌های حاصل از آن موجب تشکیل دیواره میکروسپورانژها و بافت هاگزا می‌شود. این روند مطابق وضعیت موجود در اکثر گیاهان گل‌دار می‌باشد (۱).

بر اساس مشاهدات انجام شده در این مطالعه بساک اطلسی چهار هاگدانه است که صفتی تیپیکال برای اغلب سولاناسه‌ها به شمار می‌رود (۴۵و۳۰). در این گیاه هر هاگدان به شکل تقریبا کروی بوده، ولی به واسطه پیشروی بافت پارانشیمی نازای بساک یا به اصطلاح پلاسنتوئید (جفت‌نما)، فضای درونی هر کیسه به حالت هلالی درآمده است که آن نیز به عنوان صفتی مشترک در اعضاء این خانواده مطرح می‌باشد (۴۵و۳۰). اطلاعات موجود در خصوص وجود پلاسنتوئید در سایر جنس‌های این خانواده کم بوده و ارزش سیستماتیکی این صفت در حال حاضر ناچیز است (۵۶ و ۱۲).

این وضعیت در بسیاری از خانواده‌های Lamiales، Acanthaceae، Bigonaceae و بعضی جنس‌های Convolvulaceae گزارش شده است (۱۷).

داویس (۱۹۶۶) در خصوص تشکیل لایه‌های دیواره بساک مطالعات فراوانی انجام داد و بر اساس ترتیب مراحل تقسیم یاخته‌ای دو تیپ اصلی را معرفی کرد. اما در یک تحقیق بافت شناسی بساک، به عنوان بخشی از بررسی سراسری بساک در تعدادی از جنس‌های Solanaceae، کاریزوگارسیا (۲۰۰۲b) توالی‌های تقسیمی متفاوتی در تشکیل لایه‌های بساک مشاهده کرد و بر آن اساس چهار تیپ جدید معرفی کرد که البته دو تیپ داویس را نیز دربر می‌گرفت.

الف) ترتیب اول: که در آن لایه یاخته‌ای حد فاصل اپیدرم و یاخته‌های هاگزا، لایه دیواره‌ای اولیه، ابتدا به صورت مماسی تقسیم شده و دو لایه جدید به نام لایه دیواره‌ای ثانویه را بوجود می‌آورد. سپس هر دو لایه ثانویه به نوبه خود به صورت مماسی تقسیم شده و تشکیل چهار لایه به ترتیب از خارج به داخل: لایه مکانیکی، دو لایه میانی و لایه تاپی را می‌دهند، این توالی معادل تیپ دولپه‌ای در طبقه‌بندی داویس می‌باشد.

ب) ترتیب دوم: یاخته‌های هر دو لایه دیواره‌ای ثانویه به طور مماسی تقسیم شده و اندوتسیوم، دو لایه میانی و تاپی شکل می‌گیرد. بعد از تمایز یاخته‌های تاپی، لایه میانی به تقسیمات خود ادامه داده و بر حسب تعداد تقسیمات به لایه‌های دیواره‌ای بساک افزوده می‌شود.

ج) ترتیب سوم: که در آن یاخته‌های لایه دیواره‌ای ثانویه درونی بدون تقسیم جدید لایه تاپی (تغذیه‌ای) را بوجود می آورند، در حالیکه لایه دیواره‌ای خارجی ابتدا به صورت مماسی تقسیم شده و دو لایه جدید تشکیل می دهد که لایه خارجی لایه مکانیکی و لایه درونی یاخته های میانی را بوجود می آورند، این توالی معادل تیپ پایه‌ای در طبقه‌بندی داویس می‌باشد.

د) ترتیب چهارم: فقط یاخته‌های بیرونی لایه دیواره‌ای ثانویه مماسی تقسیم می‌شوند، اما تقسیمات یاخته‌ای بعدی در لایه میانی حاصل و بعضی اوقات نیز در لایه مکانیکی صورت می‌گیرد. تاپی به طور مستقیم از لایه دیواره‌ای ثانویه درونی تمایز می‌یابد. لایه‌ها شامل: لایه مکانیکی، دو یا سه لایه میانی و لایه تاپی هستند.

با توجه به طبقه‌بندی داویس می توان نتیجه گرفت که این گیاه از تیپ دو لپه‌ای کلاسیک پیروی می‌کند. اما بر اساس نظریات کاریزوگارسیا، مشاهده دقیق مراحل تشکیل دیواره بساک و حضور ۲ تا ۳ لایه میانی، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که لایه‌بندی‌های یاخته‌ای در دیواره بساک اطلسی بر طبق الگوی چهارم می‌باشد.

در تعدادی از گونه‌های مطالعه شده خانواده Solanaceae هر دو تیپ پایه و دو لپه‌ای مشاهده شده است (۹). اما نکته جالب این است که در هاگدان‌های مختلف یک بساک در گونه *Solanum nigrum* ، هر دو تیپ داویس وجود دارند. در دیگر تحقیقات نیز موارد این‌چنینی گزارش شده است (۶).

معمولا افزایش حجم دیواره کیسه گرده به واسطه افزایش تعداد لایه‌های میانی (Ranunculaceae و Degeneriaceae) و یا تعداد لایه‌های تاپی (Schisandraceae و Trochodendraceae) می‌باشد (۱). ولی ضخیم‌شدگی دیواره میکروسپورانژ در اطلسی، تنها بواسطه حضور لایه میانی دو تا سه ردیفه بوقوع می‌پیوندد.

لایه مکانیکی در بساک اطلسی یک ردیفه بوده و یاخته‌های آن دارای اشکال قائم‌الزاویه هستند، همچنین تک هسته‌ای می‌باشند. همه این ویژگی‌ها در سولاناسه معمول است. در انواع دولپه‌ای‌ها نیز لایه مکانیکی یک لایه می‌باشد (۴۰). اما در بعضی جنس‌های این خانواده به ندرت لایه مکانیکی چند لایه نیز مشاهده می‌شود، مثلا در *Lycopersicon esculentum* یک بافت مکانیکی دو لایه در منطقه بافت رابط وجود دارد (۵۵). در جمعیت‌های *Atropa belladonna* در بخش‌های درونی و در سمت بافت رابط، ۲-۳ لایه است (۵۴). *Nicotiana glutinosa* و *tabacum* نیز دارای اندوتسیوم چند لایه هستند (۲۹). یاخته‌های این لایه در مرحله بلوغ دانه‌های گرده و در زمان تخریب لایه تاپی مراحل تکوینی خود را سپری کرده و ویژگی‌یافتگی در آنها انجام می‌شود. یکی از این موارد، تشکیل ضخیم-شدگی‌های ثانویه در دیواره یاخته‌ای آنهاست. بر اساس مطالعات کاریزوگارسیا (b ۲۰۰۲) بر روی ۵۸ گونه از ۴۴ جنس این خانواده حضور چهار نوع از این ضخیم‌شدگی در آنها به اثبات رسیده است که شامل: پشته‌های (شیارهای) حلقوی، مارپیچی، شبکه‌ای و پنجه‌ای می‌باشند. بر این اساس و بر طبق مشاهدات انجام شده این ضخیم شدگی‌ها در اطلسی از نوع پنجه‌ای است. در برخی تیره‌ها مانند گل شیپوری، گل ستاره و ارکیده نیز حضور چنین فیبرهایی گزارش شده است. عمل اولیه ضخیم‌شدگی‌های فیبری کمک به شکوفایی بساک می‌باشد (۱).

لایه مغذی در بساک گل اطلسی از نوع ترشحی بوده و مطالعات انجام شده در بعضی جنس‌های Solanaceae این موضوع را تأیید می‌کنند (۴۱ و ۴۸). در *Datura stramonium* هر دو نوع بافت تاپی آمیبی و ترشحی وجود دارند (۳۵ و ۳۷) .

تاپی در اطلسی به دو بخش تاپی بیرونی (به سمت اپیدرم) و درونی (به سمت بافت رابط) قابل تقسیم است. بخش بیرونی دارای یاخته‌های هم شکل، کشیده و کمتر واکوئله شده و در عوض بخش درونی متشکل از یاخته‌های کم تراکم، نامنظم و به شدت واکوئله شده می‌باشند. وضعیتی مشابه در *Lycopersicon esculentum* توسط پولوویچ و ساهنی (۱۹۹۳) گزارش شده است. یاخته‌های تاپی قبل از شروع میوز در یاخته‌های مادر گرده، آندومیتوز کرده و ابتدا دو هسته‌ای شده و بعد در مرحله پروفاز میوزI یاخته‌های مادر گرده، تقسیم بعدی را انجام داده و چهار هسته‌ای می-شوند. تعداد هسته‌های تاپی یکی از سازگارترین خصوصیات بساک در سطح طایفه و حتی در سطح جنس می‌باشد (۵۳). جنس‌های *Withania*، *Capsicum* و *Atropa* به ترتیب۲، ۳ و ۴ هسته در تاپی داشته و متعلق به طایفه‌های Physaleae، Capsiceae و Hyoscyameae می باشند (۳۶). این یاخته‌ها تا مرحله تتراد رشد کرده و در زمان شروع بلوغ دانه گرده با مرگ برنامه‌ریزی شده تجزیه

و از بین می‌روند. عملکرد اصلی تاپی، تهیه متابولیت‌های اساسی برای تکوین میکروسپورها است (۲۶، ۲۵ و ۵۲).

با توجه به مشاهدات دقیق انجام شده در این مطالعه، به نظر می‌رسد که وجود بافت پلاسنتوئید و واکوئوله شدن شدید بافت مغذی درونی در کیسه‌های بساک گل اطلسی در طی فرایند تکوین که با افزایش ابعاد فضاهای کیسه‌های گرده همراه است، ترفندی برای جلوگیری از پراکنده شدن یاخته‌های مادر گرده در حال میوز و حفظ ارتباط تنگاتنگ آنها با لایه مغذی ترشحی در هر دو جهت می‌باشد، زیرا در پایان فرایند میوز و کاهش وابستگی میکروسپورها به لایه‌های مغذی، هر دو بافت مربوطه، یعنی بافت پلاسنتوئید و لایه مغذی به خصوص تاپی درونی، به سرعت تجزیه شده و با عقب نشینی سریع خود فضای وسیعی از کیسه‌های گرده را در اختیار گرده‌های نابالغ قرار می‌دهند، در طی مطالعات مرجع شناختی انجام شده مطلبی در این خصوص مشاهده نشد.

پس از تجزیه بافت پلاسنتوئید و در طی فرایند بلوغ دانه-های گرده، بافت پارانشیمی نامتعارفی با منشأ لایه میانی به سرعت و با انجام تقسیمات میتوزی شدید تشکیل شده و از یک طرف در فضاهای کیسه‌های گرده و از طرف دیگر در بافت رابط بساک نفوذ می‌کند. در خصوص منشأ احتمالی این بافت می‌توان به نتایج بدست آمده در مطالعه قبلی ما استناد کرد (۳). با در نظر گرفتن شرایط موجود در زمان تشکیل این بافت شامل حجیم شدن شدید کلیه بافت‌های بساک و به طبع آن افزایش ابعاد کیسه‌های گرده، پراکنده شدن دانه‌های گرده نابالغ در کیسه‌های گرده و افزایش بعد مسافت بین دانه‌های گرده و بافت رابط، شاید تشکیل چنین بافتی با چنین گستردگی می‌تواند در انتقال متابولیت‌های لازم برای تکمیل فرایند بلوغ دانه‌های گرده مفید واقع شود. زیرا پس از تشکیل این بافت به سرعت محتوای سیتوپلاسمی دانه‌های گرده دچار تغییر شده و رنگ‌پذیری آنها نیز به‌شدت افزایش می‌یابد. در بررسی‌های منابع اطلاعاتی هیچ گونه توضیحی در خصوص این بافت پارانشیمی مشاهده نشد. در آخر می‌توان نتیجه گیری کرد که لایه‌های میانی در بساک‌های گل اطلسی علاوه بر وظایف معمول خود در سایر گیاهان نظیر ذخیره مواد در Myrsinaceae و Brexiaceae، تشکیل پری‌پلاسم در Araceae، ترشح موسیلاژ با طبیعت پلی‌ساکاریدی به درون کیسه‌های بساک و وجود کاروتن و اجسام لیپیدی در تیره سوسن (۱)، این لایه در فرایند بلوغ دانه‌های گرده نیز دخالت دارد. لازم به ذکراست که این بافت نیز همانند بافت پلاسنتوئید موقتی بوده و کمی قبل از شکفتن کیسه-های بساک شروع به تحلیل رفتن می‌کند. البته تخریب این بافت که بتدریج جایگزین سپتوم بین هاگدانی شده بود نیز به نوبه خود مفید واقع شده و شرایط یکی شدن حفرات گرده‌ای هر لوپ از بساک را فراهم می‌آورد.

میکروسپورزائی و تکوین گامتوفیت نر در این گونه به شکل طبیعی دنبال می‌شود. ترشح کالوز و تشکیل دیواره کالوزی یاخته‌های مادر گرده کمی قبل از مرحله پروفازI میوزی شروع شده و در اوایل این مرحله دیواره کالوزی به خوبی مشهود است. این مشاهده با نتایج قبلی در خصوص شروع تشکیل کالوز در اویل پروفازI در تضاد است (۳۴،۴، ۲۶، ۱۱ و۵۲). سیتوکینز در یاخته مادر گرده از نوع همزمان (Simultaneous) می‌باشد که الگوی موجود در اکثر نهاندانگان دولپه‌ای بوده (۱) و بر اساس نتایج قیمیر و هئو (۲۰۱۲) این وضعیت نیز در خانواده سولاناسه رایج است. تترادها در بساک اطلسی همگی به شکل تتراهدرال می‌باشند، در حالیکه در این خانواده اشکال دیگری نظیر ایزوبی‌لترال و متقاطع (Decussate) نیز در بعضی جنس‌ها مانند *Atropa* گزارش شده است (۲۳). بر اساس طبقه‌بندی ایمز(۱۹۶۱)، تقسیم میتوز هاپلوئیدی در گرده نابالغ اطلسی مطابق با الگوی رایج در اکثر گیاهان بویژه دو لپه‌ای‌ها می-باشد، بدین صورت که ابتدا گرده نابالغ واکوئله و بعد تقسیم میتوزی را متحمل شده و در نهایت یاخته رویشی بزرگتر و زایشی کوچکتر را فراهم می‌آورد. دانه‌های گرده

بالغ همانند اکثر اعضاء سولاناسه دو یاختهای میباشد (۱۳و۵۵). حضور دانه گرده سه یاختهای در *Solanum phureja* (۱۵) و *Capsicum frotensens* (۱۳) گزارش شده است. دانههای گرده غیر طبیعی با ۲–۸ هسته (۱۴) و نر عقیمی شدید در بعضی گونههای *Capsicum* گزارش شده است (۴۲).

دانه گرده اطلسی دارای سه شکاف دراز و غیر برجسته میباشند که کل محور طولی گرده را دربر میگیرد. بر اساس طرح اگزین و شکل گرده، پرون و کایسر (۲۰۰۷) در خانواده Solanaceae ۶ نوع گرده متفاوت شناسایی کرده و یک کلید برای تشخیصشان ارائه کردند. مطابق این کلید گردههای اطلسی باید متعلق به تیپ *Withania somnifera* باشند. دانههای گرده اطلسی در مراحل نهایی بلوغ بشدت رنگپذیر میشوند که دال بر حضور نشاسته فراوان در آنهاست. این خصیصه در این خانواده معمول بوده (۵۵) و در جنسهایی نظیر *Duboisia* (۱۳) و *Lycopersicon* (۱۰) نیز گزارش شده است.

در مراحل اولیه تکوین بساک و در زمان تشکیل لایههای یاختهای دیواره هاگدانها و شکلگیری بافت رابط، در اکثر بافتهای بساک بلورهای اگزالاتکلسیم ظاهر میشوند. دی آرسی و همکاران (۱۹۹۶) اظهار داشتند این بلورها در اکثر سولاناسهها وجود داشته و در جلب گردهافشانهای مختلف از طریق تحریکات شیمیایی و بصری نقش دارند. این بلورها در یاختههای دیوارهای بساک و بافت رابط غالبا از نوع ستارهای بوده و در طی روند تکوین این بافتها بزرگتر میشوند، ولی در زمان شکوفایی بساک آنها نیز تجزیه و در هوا پخش میگردند. اما نوع دیگری از این بلورها در بافت استومیوم اطلسی مشاهده میشود. این بلورها که بسیار کوچکتر از نوع قبلی هستند به بلورهای ماسهای معروف بوده و در زمان طویلتر شدن یاختههای استومیوم که مصادف با تقسیمات میوزی یاختههای مادر گرده است، پدیدار میشوند. در زمان شکوفایی بساک و با مرگ برنامهریزی شده استومیوم و خوشه یاختههای حلقوی زیر استومیوم این بلورها در فضای هاگدان پخش میشوند. ایوانو و همکاران (۲۰۰۴) معتقد بودند که این کریستالهای کلسیمی به دانههای گرده متصل و پس از گردهافشانی و در طی تماس با مایعات سطح کلاله در آن حل شده و کلسیم لازم را برای رشد لوله گرده فراهم میکنند. بنابراین میتوان نتیجهگیری کرد که کریستالهای کلسیمی میزان تندش دانههای گرده و رشد لوله گرده را افزایش میدهند (۴۳).

تکوین همزمان بساک و دانههای گرده و رهاسازی دانه گرده در بهترین زمان، شانس موفقیت دگرلقاحی و یا خودلقاحی را به حداکثر میرسانند. بر اساس مشاهدات انجام شده، در این گیاه شکفتن بساک یک فرایند چند مرحلهای است که جایگیری یاختههای متفاوت و تخریبشان در دیواره بساک همراه با تغییرات ساختاری و میزان آب بساک آن را تسهیل میکنند. باز شدن بساک در اطلسی با دخالت دو نوع از یاختههای تخصص یافته است، یاختههای جداکننده دو هاگدان هر لوب بساک (Septum) که به منظور تشکیل یک حفره واحد میشکنند و استومیوم که از یاختههای اپیدرمی تغییر یافته بوجود میآیند. تمایز این یاختهها در اوایل مراحل تکوین بساک یعنی قبل از میوز یاختههای مادر گرده وقتی اندوتسیوم و لایههای بافت رابط تشکیل میشوند، انجام میشود. این نتایج با دیگر مطالعات تکوینی انجام شده تأیید میشوند (۳۳ و ۴۷). اندوتسیوم و ضخیمشدگیهای ثانویه در میان این لایه یاختهای نیز نقشی تعیین کننده در باز شدن بساک و آزاد شدن گردهها دارند. تکوین اندوتسیوم با بلوغ گرده و تخریب لایههای میانی و تاپی بساک همزمان است. این فرایند شامل توسعه و رسوب ثانویه ضخیم شدگیهای لیگنین (۸ و ۴۹) در یاختههای لایه مکانیکی، تخریب سپتوم و دیواره بساک همراه با بدون آب شدن بساک و تورم گردهها موجب شکست استومیوم و باز شدن بساک میشود. البته قبل از شکفتن بساک، استومیوم دچار مرگ

برنامه‌ریزی شده یاخته‌هایش می‌شود. اهمیت استومیوم عملکردی برای شکفتن بساک توسط مطالعات نقص یاخته‌ای در تنباکو ثابت شده است (۵).

گارسیا و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی شکفتن بساک و ساختار استومیوم در ۳۰ گونه *Solanum*، سه نوع اصلی شکفتن را در بساک این خانواده مشخص کردند.

الف) روزن‌گشا (Poricidal): حالتی که شکفتن از طریق یک سوراخ کوچک راسی رخ می‌دهد.

ب) روزنی- طولی (Poricidal-longitudinally): حالتی که روزنه وجود داشته ولی باز شدن آن با تشکیل یک شکاف طولی ادامه می‌یابد.

ج) طولی (Longitudinally): حالتی که استومیوم در کل طول بساک تشکیل شده و شکاف طولی سرتاسری است.

بر اساس این طبقه‌بندی و بر طبق مشاهدات انجام شده در این مطالعه، شکوفایی بساک‌های گل اطلسی از نوع طولی می‌باشند. تمایز یاخته‌های استومیوم و توزیع ضخیم‌شدگی-های ثانویه در اندوتسیوم اطراف استومیوم، تعیین کننده سیستم شکوفایی بساک‌ها هستند (۲۱). در اطلسی و سایر گونه‌های سولاناسه، در ناحیه دندانه واقع در زیر استومیوم یاخته‌های تخصص یافته‌ای یافت می‌شوند که شامل: خوشه‌های یاخته‌های حلقوی، سپتوم بین هاگدانی و سپتوم هیپودرمال هستند. تکوین این یاخته‌ها با جزئیات دقیق نیز در تنباکو بررسی شده است (۴۷).

## منابع


۱- چهرگانی, ع. رضانژاد، ف. (۱۳۸۷). رویان‌شناسی گیاهان گل‌دار: واژگان و مفاهیم. انتشارات دانشگاه باهنر کرمان.

۲- چهرگانی، ع. زارع، ش. و حاجی صادقیان، س (۱۳۸۹a). رویان-زایی در *Tripleurospermum disciforme* تیپ جدید و نادر از رویان‌زایی. مجله زیست شناسی ایران. جلد.۲۳(۱): ۲۶-۳۴.

۳- رمضانی، ح. (۱۳۹۲). بررسی اثر کلرید کادمیوم بر مراحل تکوین و آلرژی‌زایی دانه‌های گرده اطلسی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان.

4- Ahmed, FE, Hall AE & Demasom DA (1992). "Heat injury during floral development in *Vigna unguiculata"*.Am J Bot79: 784-791 .

5- Beals TP, Goldberg RB. (1997). "A novel cell ablation strategy blocks *tobacco* anther dehiscence". The Plant Cell9, 1527–1545.

6- Bhandari, N. N. & Sharma, M. (1987)." Histochemical and ultra structural studies during anther development in *Solanum nigrum* L. I. Earlyontogeny".Phytomorphology37:249–260.

7- Blackmore, S. & Barnes, S. H. (1990). Pollen wall development in angiosperms. – In: Microspores, evolution and ontogeny. (ed. S. Blackmore, & R. B. Knox), pp. 173–192. – Academic Press, London.

8- Bonner L, Dickinson H. (1989). "Anther dehiscence in *Lycopersicon esculentum Mill"*. New Phytologist113, 97–115.

9- Carrizo García, C. (2002b)."The anther wall formation in *Solanaceae* species".Ann. Bot. 90: 701–706.

10- Chelak, V.R. (1987). "*Lycopersicon Mill*., *Solanum L*. − In: Yakovlev,M.S. (ed.), Embryology of Cereals". Pulses and Vegetable and Food Cultivated Plants. pp. 107-118. Shtiintsa, Kishinev (in Russian).

11- Chichiricco, G. (1999). "Developmental stages of the pollen wall and tapetum in some Crocus species". Grana. 38: 31-41.

12- D'Arcy, W.G., Keating, R.C. & Buchman, S.L. (1996). "The calcium oxalate package or so-called resorption tissue in some angiosperms anthers". − In: D'Arcy, W.G. & Keating R.C.(eds), The Anther: Form, Function and Phylogeny. Pp. 159-196. Cambridge Univ. Press, Cambridge.

13- Davis, G. (1966). "Systematic Embryology of the Angiosperms". John Wiley & Sons, Ltd, New York, London, Sydney.

14- DJharmaraj, P. and Prakash, N. (1978). Development of the anther and ovule in *Capsicum L*. Australian Journal of Botany 26: 433–439.

15- Dnyansagar, V.R. & Cooper, D.C. (1960). "Development of the seed of *Solanum phureja"*. Am. J. Bot., 47: 176-186.

16- Doyle, J. A. (1988). Pollen evolution in seed plants: a cladistic perspective. – J. Palynol. 23–24: 7–18.

17- Eames, A. J. (1961). Morphology of the Angiosperms. McGraw-Hill, NY,USA.

18- Endress, P.K. (1996). Diversity and evolutionary trends in angiosperm anthers: 92-110.

19- Erdtman, G. (1952). Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms. – Almqvist & Wiksell, Stockholm.

20- Galati, B.G., S. Rosenfeldt and G.M. Tourn, (2006). Embryological studies in *Lotus glaber* (*Fabaceae*). Ann. Bot. Fenn., 43: 97-106.

21- Garcia, CC, Matesevach M, Barboza G. (2008). "Features related to anther opening in *Solanum* species (*Solanaceae*)". Botanical Journal of the Linnean Society,158, 344–354.

22- Gerats, T., and, Strommer, J.,, Ed. (2009). "Petunia: Evolutionary, Developmental and Physiological Genetics", Springer Science +Business Media, LLC 2009.

23- Ghimire, B., & Heo, K.,(2012) "Embryology of *Withania somnifera* (L.) dunal (*solanaceae*). Acta biologica cracoviensia Series Botanica.54/2: 69–78.

24- Gotelli, M., B. Galati and P. Hoc, (2006). Embryology of Macroptilium arenarium (*Legominosae*). Aust. J. Bot., 54: 531-542.

25- Hardy, C. R., Stevenson, D. W. M. & Kiss, H. G.(2000). "Development of the gametophytes, flower, and floral vascular in *Dichorisandra thyrsiflora* (*Commelinaceae*)".Am. J. Bot., 87, 1228-1239.

26- Hermann, P. M. & Palster, B. F. (2000). "Stamen development in the *Ericaceae"*.Am. J. Bot., 87, 934-957.

27- Iwano, M., Entani, T., Shiba, H., Takyama, S. & Isogai, A. (2004). " Calcium crystals in the anther of *Petunia*: the existence and biological significance in the pollination process". Plant and cell Physiology. 45: 40-47.

28- Izhar, S., (1984). "Male sterility in *Petunia*".In SINK K.C. (ed.), Monograph of the The oretical Applied Genetics, 77-79.

29- Jose J, and Singh SP.(1968)."Gametophyte development and embryogeny in the genus *Nicotiana"*. Journal of Indian Botanical Society ,47: 117–128.

30- Liscovsky, I.J., Cosa, M.T. & Barboza, G.E. (2009)." Flower vascularisationin *Solanaceae*: a particular pattern in *Metternichia"*. J. G.Mikan. Adansonia, Ser. 3, 31: 413-425.

31- Liu, C.C. and T.C. Huang, (1999). Microsporogenesis and exine substructure in Uraria crnita (*Fabaceae*). Grana, 38: 277-283.

32- Liu, C.C. and T.C. Huang, (2003). Anther and pollen wall development in *Dumasiamia oliensis*. Liu and lu (*Fabaceae*). Taiwania 48: 273-281.

33- Ma, H. (2005). "Molecular genetic analyses of microsporogenesis and microgametogenesis in flowering plants". Annual Review of Plant Biology ,56: 393–434.

34- Majd, A.& Mohamadi, S. (1992). "Effect of certain toxins and air pollutionon pollen development of *Glycine max*." .J Islamic Azad University, 649-651.

35- Majd, A. & Mofrad, R. (2001). "Comparative study of structural, anatomical and developmental characteristics of two species of *Datura* and assay their antimicrobial effects". The 1st. Iranian. Cong. Appl.Biol., Tehran, Iran.

36- Olmstead, RG, Bohs, L., Migid, H.A., Santiago-Valentine E, Garciavf and Collier SM. (2008). "A molecular phylogeny of the *Solanaceae"*.Taxon57: 1159–1181.

37- O'Neal, C.E. (1920). Microsporogenesis in *Datura stramonium"*. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 47: 231–241.

38- Pacini E. (1990). Tapetum and microspore function. In: Blackmore S., Knox R.B. (eds), Microspores: evolution and ontogeny. Academic Press, London, pp. 213-237.

39- Perveen, A. & Qaiser, M. (2007). Pollen morphology of family *Solanaceae* from Pakistan. Pak. J. Bot., 39(7): 2243-2256.

40- Poddubnaya-Arnoldi, V.A. (1976). Cytoembryology of Angiosperms. Basics and Perspectives. Nauka, Moskva (in Russian).

41- Polowick, P. L. & Sawhney, V. K. (1993). "Differentiation of the tapetum during microsporogenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum Mill*) with special reference to the tapetal cell wall". Ann. Bot., 72: 595-605.

42- Raghuvanshi, RK, and Singh, D. (1984). Embryological manifestations of male sterility in *CapsicumL*. Acta Botanica Indica 12: 213–215.

43- Rezanejad, F., (2006). "Differentiation of Crystal-containing Cells during Anther Development and Crystal Types in the Anther of *Petunia hybrida grandiflora*". Thaiszia - J. Bot., Košice,16: 41-46.

44- Rezaejad, F., (2013). "The response of anther and pollen development, pollen cellular material release and pollen proteins to air pollution in *Petunia hybrida Juss. (Solanaceae)"*.Iranian Journal of Science & Technology.A1: 63-68

45- Rodriquez, I. (2000). "Flower anatomy and morphology of *Exodeconusmaritimus* (*Solanaceae*, *Solaneae*) and *icandra physalodes* (*Solanaceae*, *Nicandreae*): importance for their systematic relationships". Adansonia, Ser. 3, 22: 187-199.

46- Ruzin, S. E., Plant microtechnique and microscopy. Oxford, New York: Oxford University Press; (1999).

47- Sanders, PM, Bui AQ, Le BH, Goldberg RB. (2005). "Differentiation and degeneration of cells that play a major role in *tobacco* anther dehiscence". Sexual Plant Reproduction, 17: 219–241.

48- Sazima, M., Vogel, S., Cocucci, A. & Hausner, G.(1993). The perfume flowers of C*yphomandra* (*Solanaceae*): pollination by euglossine bees, bellows mechanism, osmophores, and volatiles. P1. Syst. Evol.,187, 51-88.

49- Scott RJ, Spielman M, Dickinson HG. (2004). "Stamen structure and function". The Plant Cell , 16 Suppl 1, S46–S60.

50- Shamrov, I. (1998). Ovule classification in flowering plants- new approach and concepts. Botanische Jahrbucher fur Systematik 120: 37-44.

51- Southworth, D. (1990). Exine biochemistry. – In: Microspores: - Evolution and Ontogeny. (ed. S.lackmore & R. B. Knox), pp. 194–212. – Academic Press, London.

52- Suzuki, K.& Tajeda, H. (2001). "Ultra structural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris*) under heat stress". Sex Plant Reprod ,13: 293-299.

53- Tobe, H. (1989). The embryology of angiosperms: its broad application to the systematic and evolutionary study. Botanical Magazine, (Tokyo) ,102: 351–367.

54- Yurukova-Grancharova, P., Yankova-Tsvetkova, E., Baldjiev, G., & Cantos Barragan, M., (2011). "Reproductive biology of *Atropa belladonna*: embryological features, pollen and seed viability". Phtologica Balcanica. 17 (1): 101 –112.

55- Zhukova, G.Y. & Poddubnaya-Arnoldi, V.A. (1987). "*Solanaceae*. − In: Batygina, T.B. & Yakovlev, M.S. (eds)". Comparative Embryology of Flowering Plants. Vol. 4, pp. 241-247. Nauka, Leningrad (in Russian).

56- Weberling, F.(1992). "Morphology of Flowers and Inflorescences". Cambridge Univ. Press, Cambridge.

57- Wilson, Z. A., Zhang, D.B. (2009). "From Arabidopsis to rice: pathways in pollen development".

# The study of anther and pollen developmental stages in

*Petunia hybrida* juss.

**Chehregani A. and Ramezani H.**

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

## Abstract

The pollen grains and anther developmental characteristics of *Petunia hybrida* were studied in this research. Petunia plants were grown in green house under experimental conditions. The flowers and buds, in different developmental stages, were removed, fixed in $FAA_{70}$, stored in 70% ethanol, and following dehydration and embedding in paraffin, the specimens were sliced by a rotary microtome. Staining was carried out with Hematoxylin-Eosine and prepared specimens were studied under a light microscope. Results indicated that anthers are tetrasporangiate and each pollen sac, due to progress in placentoeid tissue, are crescent-shaped. The sporogenous tissue was surrounded by dimorphic secretory tapetum. The pollen grains, in this plant, are spherical in polar view and fusiform in equatorial view; mature pollen grains are prolate, tricolporate/tricolporoidate with furrows disposed along polar axis. The disposition of the microspore in the tetrads is tetrahedral. The pollen grains are 2-celled when shed. The pattern of wall formation is dicotyledonous type. Stomium is formed by the differentiation of epidermal cells within the anther, to form a single cell region, the location of which determines the position of anther opening. In the final stages of pollen grains maturation unusual tissue formation in anther septum and causes deformation of the pollen sac.

**Key words:** *Petunia*, Microsporogenese, Anther wall, Anther dehiscence, Solanaceae