

## رویان زایی در *Tripleurospermum disciforme*: تیپ جدید و نادر از رویان زایی

عبدالکریم چهرگانی<sup>۱\*</sup>، شاهین زارع<sup>۲</sup> و سمهی حاجی‌صادقیان<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> همدان، دانشگاه بولوی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> تهران، دانشگاه تهران، دانشکده زیست‌شناسی، گروه علوم گیاهی

تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۱۶ تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲

### چکیده

در این پژوهش ویژگیهای رویان شناختی *Tripleurospermum disciforme* مورد بررسی قرار گرفت. گلها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در الکل ۷۰ FAA70 ثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شد. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین با میکروتووم برش گیری شد. رنگ آمیزی با پریودیک اسید شیف و نیز با هماتوکسیلین انجام گرفت. نتایج نشان داد که بساکها دارای ۴ کیسه گرده بوده و لایه مغذی از نوع ترشحی است. تترادهای میکروسپور از نوع چهارضلعی (تتراهدرال) و چهار گوش (تتراغونال) هستند. دانه‌های گرده در زمان انتشار دو یاخته‌ای هستند. تخمک از نوع واژگون، تک پوسته‌ای و کم خورش است. لایه آندوتلیوم از یک ردیف یاخته تشکیل شده است. نمو کیسه رویانی بر اساس تیپ پلی‌گونوم صورت می‌گیرد، اما افزایش یاخته‌های آنتی‌پود از ۶ تا ۸ مشاهده و هسته آنها حالت پلی‌پلوئیدی دارد. بر اساس نتایج این پژوهش دو نوع رویان زایی در این گیاه وجود دارد، در برخی از گلچه‌ها که هرمافرودیت هستند، اگر چه یاخته‌های آنتی‌پود افزایش پیدا می‌کند، اما خاستگاه رویان از یاخته تخم است. ولی در عده‌ای دیگر از گلچه‌ها که آنها نیز هرمافرودیت هستند، یاخته‌های آنتی‌پود افزایش پیدا کرده، پایدار مانده و بدون انجام لقاد، رویان را بوجود می‌آورد. در این موارد دستگاه تخم تحلیل رفت و از بین می‌رود که به نظر می‌رسد علت آن عدم تلقیح یاخته تخمز است.

واژه‌های کلیدی: *Asteraceae*، میکروسپورزایی، مگاسپورزایی، تخمک، رویان زایی، *Tripleurospermum*

\*نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۱-۸۲۵۷۴۰۲، پست الکترونیکی chehregani@basu.ac.ir

### مقدمه

آنها اغلب مشکل‌زا بوده، برخی از آنها باید پی در پی به زیر گروههای کوچک‌تر تقسیم شوند (۱۶). یکی از مشکلات اساسی آرایه شناختی در این تیره ارتباطات بین سرده‌ها، طایفه‌ها و همچنین وجود گونه‌های چند شکل (پلی‌مورف) است (۳۰).

بسیاری از گیاهان این تیره از جمله *Tripleurospermum disciforme* از نظر دارویی و داشتن انسانس ارزش ویژه‌ای دارند (۳، ۷ و ۱۳). مطالعات متعدد کاریولوژیک و فیتوشیمی در این آرایه صورت گرفته است (۳۱ و ۳۲)، اما با این وجود به نظر می‌رسد که مطالعات رویان شناختی محدودی در این تیره انجام شده است، بنابراین هنوز انجام مطالعات جدید رویان شناختی برای افزایش دانش و آگاهی در مورد گیاهان این تیره ضروری است (۲۹).

زیست‌شناسی تولید مثلی که مطالعه مراحل مختلف تکوین گل یعنی اندام زایی، گرده افسانی، لقاد، رویان زایی، بلوغ دانه، پراکندگی و رویش دانه‌ها را شامل می‌شود، در مفهوم وسیع‌تر رویان شناسی نیز نامیده می‌شود. توسعه دانش زیست‌شناسی تولید مثلی، به ویژه برای حفظ گیاهان نادر و در حال انقراض و نیز گیاهان مهم در بخش کشاورزی ضروری است (۱). تیره *Asteraceae* بزرگترین تیره گیاهی است (۴) که سرده‌ها و گونه‌های فراوان آن، پراکنش جهانی، و این حقیقت که شامل تعداد زیادی گیاه مفید و دارویی می‌باشد این تیره را موضوع مطالعات متعددی نموده است (۳۳). بر اساس گزارش‌های باغ گیاه شناسی سلطنتی کیو این تیره بیش از ۱۶۰۰ سرده و ۲۳۰۰۰ گونه دارد. در این تیره تقسیم بندهی سرده‌ها و تشخیص مرز بین

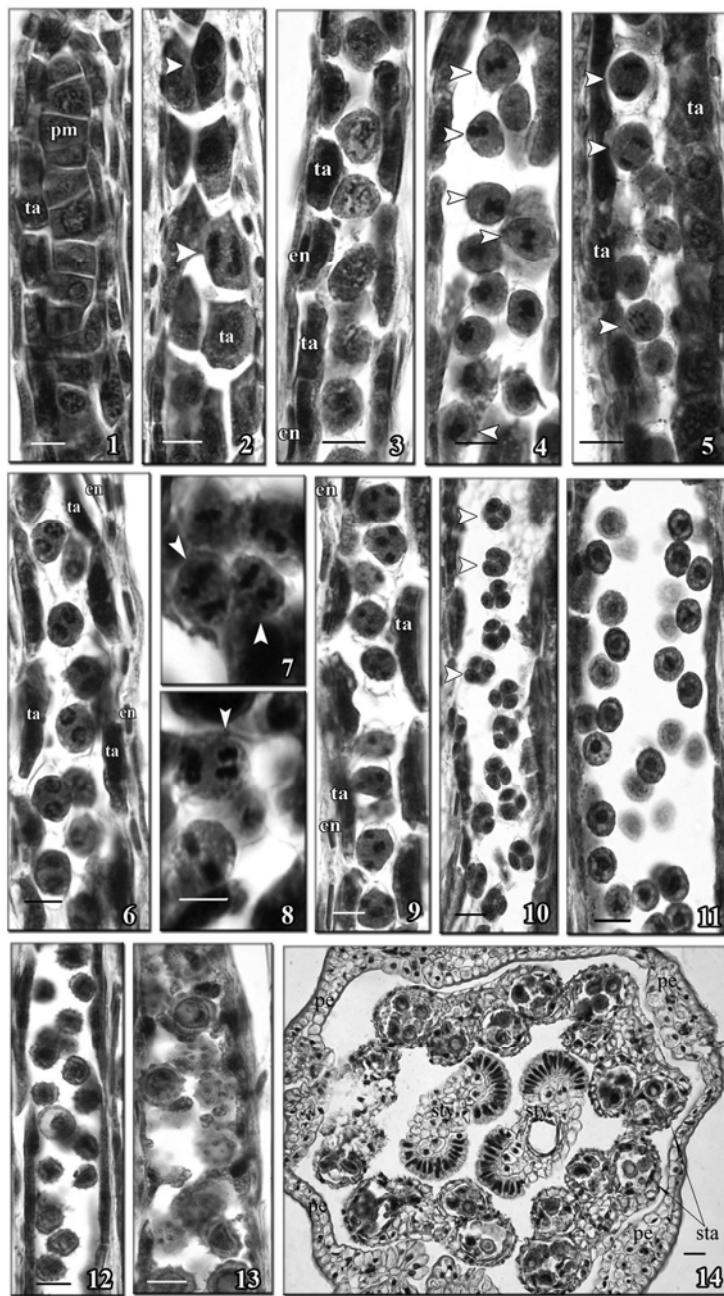
## نتایج

**تشکیل دیواره بساک:** بساک در گیاه *T. disciforme* از نوع چهار کیسه گرده‌ای است. در مراحل اولیه نمو بساک در زیر اپیدرم ۵ تا ۸ ردیف یاخته آرکتوسپوری تمایز پیدا می‌کند. یاخته‌های آرکتوسپور با سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم خود قابل تشخیص است. این یاخته‌ها به صورت مماسی تقسیم شده، یاخته بیرونی (یاخته جداری) و یاخته داخلی (یاخته هاگزا) را تشکیل می‌دهد. دیواره بساک از تقسیمات یاخته جداری به وجود می‌آید که سه لایه است و از بیرون به داخل شامل اپیدرم، لایه مکانیکی و لایه تاپی است. اپیدرم از یک لایه تک یاخته‌ای تشکیل شده و یاخته‌های لایه مغذی تک هسته‌ای یا در برخی مراحل دو هسته‌ای می‌باشد. این یاخته‌ها کم و بیش کروی بوده و به سمت حفره داخل بساک رشد می‌کنند (تصویرهای ۱۰، ۱۲). آنها متحمل چندین تقسیم میتوزی شده (تصویر ۲) و به یک درجه بالایی از پلی پلوئیدی می‌رسند که برای فعالیتهای متابولیسمی آنها ضروری است. یاخته‌های لایه مغذی در مراحل مختلف نمو بساک و دانه‌های گرده در جای خود ثابت باقی مانده و تحلیل نمی‌روند (تصاویر ۱۱-۱۳)، بنابر این لایه مغذی از نوع ترشحی است. اما وقتی که میکروسپورها در حال نمو به دانه گرده بالغ هستند ضمائمی از یاخته‌های لایه مغذی به سمت حفره بساک تشکیل می‌شود (تصویرهای ۱۲، ۱۳). در مرحله دانه‌های گرده تک یاخته‌ای یا دو یاخته‌ای، یاخته‌های لایه مغذی تقریباً تحلیل می‌روند اما هنوز باقیمانده آنها قابل مشاهده است. ضمائم حاصل از یاخته‌های لایه مغذی در مرحله دانه‌های گرده تک یاخته‌ای کم و بیش قابل مشاهده است (تصویرهای ۱۲، ۱۳). لایه میانی دیواره بساک، در این گونه گیاهی نمو پیدا نمی‌کند. در مرحله دانه‌های گرده دو یاخته‌ای لایه مکانیکی هنوز ضخیم شدگیهای فیری را تشکیل نداده و یاخته‌ها هنوز زنده‌اند. اما در مرحله پایانی نمو دانه‌های گرده دو یاخته‌ای، این اتفاق صورت می‌گیرد.

همچنین پیش‌بینی می‌شود مطالعات رویان شناختی بتواند در کنار سایر مطالعات در حل مشکلات آرایه شناختی این گروه نیز همانند سایر تیره‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (۱۸ و ۲۹). بر اساس مطالعات رویان شناختی محدود انجام شده نیز، استثنای محدودی در این گیاهان این تیره گزارش شده است از قبیل: وجود پدیده Nemec یعنی تشکیل ساختارهای شبیه گیسه رویانی در دانه گرده (۸ و ۱۰)، افزایش یاخته‌های قربنه (۲ و ۹)، افزایش یاخته‌های آنتی پود (۲۳ و ۲۸)، گیسه رویانی ۴ یاخته‌ای (۱۵) و آپومیکسی (۶ و ۱۱). بر اساس مطالعات مرجع شناختی به عمل آمده، پژوهش حاضر اولین گزارش در مورد رویان شناسی سرده *Tripleurospermum* است.

## مواد و روشها

برای مطالعه رویان شناسی *T. disciforme*، گیاهان از زیستگاه‌های طبیعی در همدان جمع آوری شده و در هریاریوم دانشگاه بو علی سینا (BASH) نگهداری می‌شوند. مشخصات محل جمع آوری آن به صورت زیر مشخص شد: همدان، ۱۵ کیلومتری همدان به بهار، روستای برفجین، ارتفاع ۷۵۰ متری. علاوه بر این گلهای غنچه‌های گیاه مورد مطالعه از گیاهان طبیعی رویش یافته در منطقه ذکر شده، در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در فیکساتور FAA70 ثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از قالب گیری در پارافین با میکروتون برش گیری گردید. رنگ آمیزی با پریودیک اسید شیف ونیز با هماتوکسیلین طبق روش پیشنهادی توسط Yeung (۳۶) انجام گرفت. هر یک از مراحل تکوین تخمک و پرچم در چندین برش به وسیله میکروسکوپ نوری Zeiss Axiostar Plus بررسی شد. برای هر مرحله حداقل بیست گل برش گیری شده و از بهترین آنها با دوربین دیجیتال Canon عکس برداری شد.



تصاویر ۱-۱۴: میکروسپورزایی، تشکیل گامتوفت نر و نمو دیواره بساک در *Tripleurospermum disciforme*. (۱) برش طولی از بساک که نشان دهنده دیواره بساک به ویژه لایه مغذی (ta) و یاخته‌های مادر گرده (pm) است که در یک ردیف مستقر هستند. (۲) برش طولی از بساک که از لایه مغذی عبور نموده و تقسیمات میتوزی ژر یاخته‌های مغذی را نشان می‌دهد که منجر به دو هسته ای شدن و یا پلی پلوئیدی در یاخته‌های لایه مغذی می‌گردد. (۳) برش طولی از بساک که نشان دهنده آغاز تقسیم میوز در یاخته‌های مادر گرده است (پروفاز I). (۴) مرحله متافاز I. (۵) آنافاز I. تلوفاز I. (۶) آنافاز II. (۷) تلوفاز II. (۸) آنافاز III. (۹) تلوفاز III. (۱۰) برش طولی بساک در مرحله تراد میکروسپور. (۱۱) برش طولی بساک در مرحله میکروسپورهای (گرده‌های جوان) رها شده از تراد. شکل میکروسپورها منظم و هسته منفرد آنها قابل مشاهده است. لایه مغذی از نوع ترشحی بوده و یاخته‌های آن در جای خود باقی مانده‌اند. (۱۲) در گرده‌های جوان تشکیل دیواره (اگزین) مشهود است. (۱۳) برش طولی از بساک در مراحل پایانی نمو و بلوغ دانه‌های گرده. ضخیم شدگی دیواره دانه گرده و تشکیل اگزین مشهود است. دانه‌های گرده از نوع دو هسته ای بوده و ضمائم پری پلاسمودیومی حاصل از یاخته‌های مغذی که به سمت حفره بساک تشکیل شده مشهود است. (۱۴) برش عرضی از یک گل با پنج بساک دارای ۴ کیسه گرده که نمو دانه‌های گرده در کلیه کیسه‌های گرده همزمان است. شاخص معادل ۳۰ میکرومتر است. مخففها: ep، اپدرم؛ en، اپدرم؛ pm، لایه مکانیکی؛ ta، لایه مغذی؛ sta، پرچم؛ sta، دانه گرده.

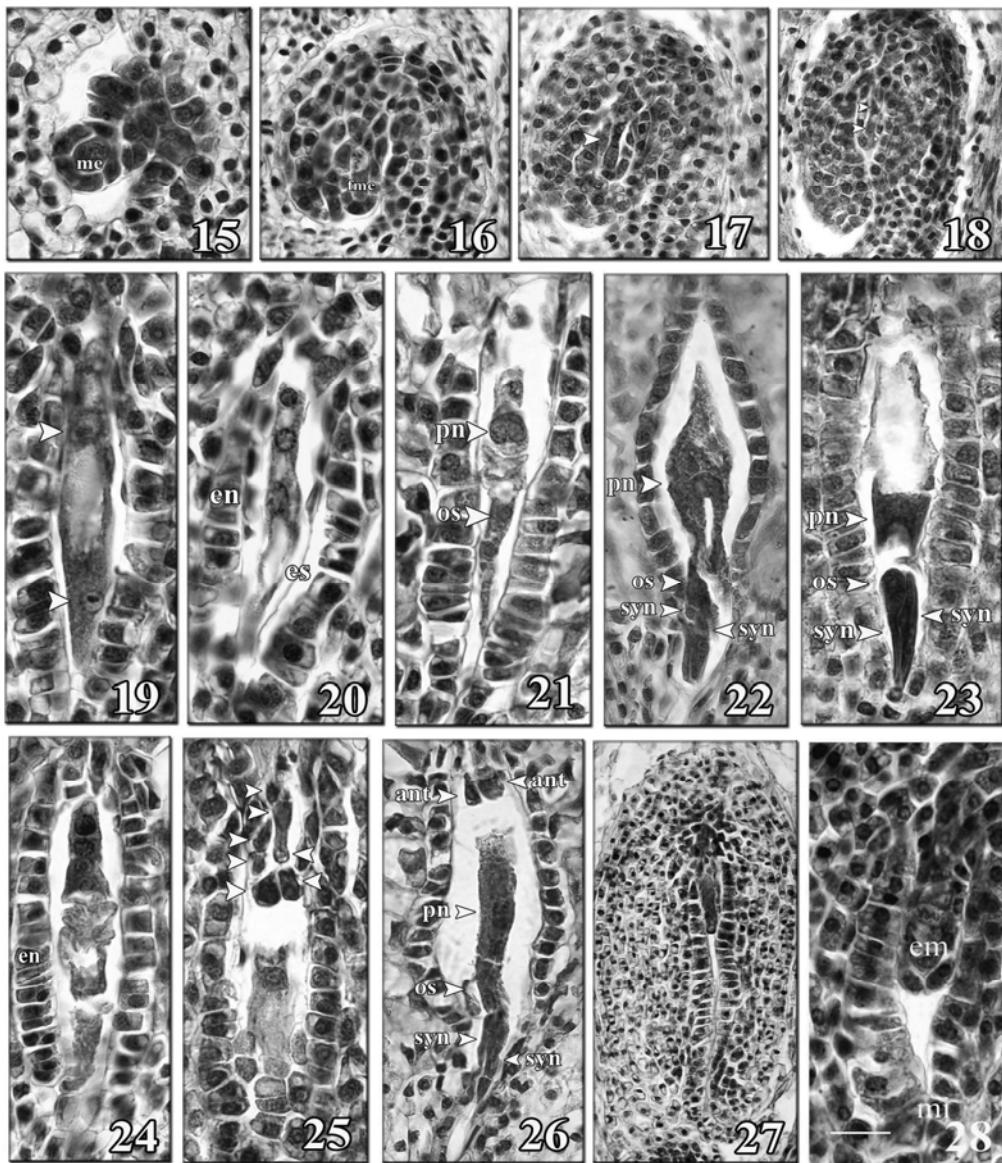
سایر یاخته‌های خورش متمایز و تبدیل به یاخته مادر مگاپور (mc) می‌شود، بنابر این تخمک از نوع کم خورش است (تصویر ۱۶). یاخته مادر مگاپور از نظر اندازه رشد می‌کند و با ورود به میوز تولید دیاد و سرانجام تولید تراد خطی مگاپور را می‌کند که مگاپور بنی مگاپور عملکردی است. مگاپور عملکردی که در این مرحله، کیسه رویانی یک هسته‌ای نامیده می‌شود (تصویر ۱۷) متحمل سه تقسیم پی در پی میتوzی می‌گردد و در نتیجه ابتدا کیسه رویانی دو هسته‌ای (تصویرهای ۱۸ و ۱۹)، چهار هسته‌ای (تصویر ۲۰) و در نهایت کیسه رویانی هشت هسته‌ای را به وجود می‌آورد. یاخته‌ای شدن در کیسه رویانی رخ داده و موجب تشکیل کیسه رویانی بالغ می‌شود (تصویرهای ۲۱ تا ۲۳). یاخته‌ای شدن کیسه رویانی همزمان با مهاجرت هسته‌های قطبی صورت می‌گیرد (تصویر ۲۱). کیسه رویانی حاصله از نوع پلی‌گونوم است که برای حدود ۸۰ درصد گونه‌های نهاندانه توصیف شده است.

در کیسه رویانی بالغ یاخته تخم از نظر استقرار از دو یاخته فرینه (سینرژید) همراهش قابل تشخیص است (تصویر ۲۳). همزمان با تمايز یاخته‌های سفتی به دو یاخته فرینه و یاخته تخمز، هسته‌های قطبی به سمت سفت مهاجرت کرده و با هم تلفیق می‌شوند تا یک هسته ثانویه بزرگ را به وجود آورند (تصویر ۲۱). یاخته تخم گلابی شکل بوده و به واسطه استقرار یک هسته درشت در قطب بنی خود قابل تشخیص است و دو یاخته فرینه به واسطه قطبیت و همچنین تشکیل ساختارهای رشتهدی توسعه یافته به سمت سفت قابل تشخیص است (تصویرهای ۲۲ و ۲۳). در بخش میانی کیسه رویانی هسته‌های قطبی قابل رویت بوده که قبل از لقادیر با هم تلفیق شده و تولید هسته ثانویه با یک واکوئل بزرگ و اندامکهای سیتوپلاسمی متعدد را کرده و هسته ثانویه به سمت دستگاه تخم مهاجرت می‌کند (تصویرهای ۲۲ و ۲۳). در گیاه مورد پژوهش، یاخته‌های

میکروسپورزایی و نمو گامتوفیت نر: یاخته‌های هاگزاری بوجود آمده از یاخته‌های آرکئوسپور مستقیماً به میکروسپوروسیت تمایز پیدا می‌کنند (تصویر ۱) و میوز در هر میکروسپور آغاز می‌شود به طوری که پروفاز I (تصویر ۳)، متافاز I (تصویر ۴)، آنافاز I (تصویر ۵)، تلوفاز I (تصویر ۶)، متافاز II (تصویر ۷)، آنافاز II (تصویر ۸)، تلوفاز II (تصویر ۹) منجر به تشکیل ترادهای میکروسپوری می‌شود. بین هسته‌های تلوفاز I دیواره به وجود نمی‌آید (تصویر ۶). سیتوکینز از نوع هم زمان است و پس از میوز II رخ می‌دهد. ترادهای بیشتر از نوع چهار ضلعی (تراهرال) و به ندرت از نوع چهار گوش (تراغونال) هستند (تصویر ۱۰). گاهی اوقات دیواره کالوزی در اطراف ترادهای و لایه لای مونادها به خوبی قابل تشخیص است (تصویر ۱۰). میکروسپورها در زمان آزاد شدن هنوز واکوئله نبوده و دارای سیتوپلاسم متراکم، شکل هستند (تصویر ۱۱). به تدریج تزئینات اگزین در میکروسپورها تشکیل می‌شود (تصویر ۱۲). با توسعه واکوئل مرکزی هسته به موقعیت کناری رانده می‌شود (تصویر ۱۳). یعنی یک واکوئل بزرگ، سیتوپلاسم و هسته دانه گرده را به کناره‌ها می‌راند. سپس هسته با روش میتوز تقسیم می‌شود و دو هسته نابرابر را بوجود می‌آورد: یک هسته بزرگ رویشی و یک هسته کوچک زایشی که منجر به تشکیل دانه گرده دو هسته‌ای و در نهایت دو یاخته‌ای می‌شود.

**مگاپورزایی و نمو گامتوفیت ماده:** در این گیاه تخدمان تک برچه‌ای، تک خانه‌ای، با جفت قاعده‌ای و یک تخمک است. تشکیل پوسته تخمک با تقسیمات مماسی و عمود بر سطح در قاعده خورش آغاز می‌شود. تخمک از نوع واژگون و تک پوسته‌ای است (تصویرهای ۱۵ تا ۱۸). در مراحل اولیه نمو تخمک یک یاخته زیر اپیدرمی واحد قابل تشخیص است (تصویر ۱۵). این یاخته بزرگ شده و از

آنتی پود پس از بلوغ کیسه رویانی به تقسیم خودشان ادامه می‌دهند (تصویر ۲۴) و باعث افزایش تعداد یاخته‌های



تصاویر ۱۵-۲۸: مگاپور زایی و تکوین مگاکامتوفت در *Tripleurospermum disciforme* (۱۵) برش طولی از تخمگ جوان با یاخته مادر مگاپور (me) و پرسته‌های تخمکی در حال تشکیل. (۱۶) برش طولی تخمک با مگاپور عملکردی (fme) بُنی. (۱۷) برش طولی تخمک با کیسه رویانی یک هسته‌ای. (۱۸) برش طولی تخمک نشان دهنده کیسه رویانی دو هسته‌ای. (۱۹) برش طولی از کیسه رویانی نشان دهنده مهاجرت و دور شدن دو هسته هاپلوبیوت از یکدیگر. (۲۰) برش طولی کیسه رویانی در مرحله چهار هسته‌ای. (۲۱) برش طولی از کیسه رویانی ۸ هسته ای نشان دهنده مهاجرت هسته‌های قطبی (pn) به سمت مجرای سفت و دستگاه تنفس. (۲۲) تلفیق هسته‌های قطبی (pn) در مجاورت دستگاه تخم. (۲۳) تکمیل تمایز و یاخته‌ای شدن در کیسه رویانی. قرینه‌ها (syn) و تخمزا (os) به خوبی مشهود هستند. (۲۴) تقسیم در یاخته‌های آنتی پود که موجب افزایش تعداد آنها شده است. (۲۵) افزایش یاخته‌های آنتی پود به ۶-۸ عدد و آرایش آنها به صورت T شکل. (۲۶) برش طولی از کیسه رویانی بالغ لقادح یافته که در آن تقسیمات تخم ضمیمه (pn) زودتر از تخم اصلی آغاز شده است. (۲۷) برش طولی کیسه رویانی با ساختار رویان مانند حاصل از فعالیت یاخته‌های آنتی پود. دستگاه تخم تحلیل رفته و در قطب سفتی مشاهده نمی‌شود. (۲۸) برش طولی کیسه رویانی با رویان (em) حاصل از یاخته‌های آنتی پود. شاخص معادل ۵۰ میکرومتر است. مخففها: en، آندوتیلیوم؛ em، رویان؛ mc، یاخته مادر مگاپور؛ fme، مگاپور عملکردی؛ pn، قطبی (بعد از تلفیق هسته ثانویه)؛ ant، آنتی پودها؛ syn، قرینه‌ها؛ os، تخمزا.

شیبه به یاخته‌های آنتیپود کیسه رویانی هستند (۲۱). در نهان‌دانگان دو تیپ اصلی نمو لایه تاپی بساک قبل تشخیص است (۲۲): ترشحی (جداری) و آمیبی (periplasmoidal). در گیاه *Tripleurospermum* لایه تاپی از نوع ترشحی 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 (۲۰) که با این نتایج همسوی ندارد. در گیاه *Tripleurospermum* یاخته‌های اولیه هاگزا مستقیماً به یاخته‌های مادر گرده تمایز پیدا می‌کنند که به صورت یک ردیفه در بخش میانی بساک استقرار دارند. گونه‌های محدودی وجود دارند که چنین ویژگی (استقرار یک ردیفه یاخته‌های مادر گرده) را از خود نشان دهن (۱۷). متأسفانه هنوز اهمیت استقرار یک ردیفه یاخته‌های مادر گرده از نظر تبارزایی گیاهی ناشناخته است (۲۴). میوز در هر میکروسپورسیت منجر به تشکیل تتراد می‌شود. تترادها بیشتر از نوع تتراهرال و به ندرت از نوع تتراغونال هستند. وجود تترادهای تتراهرال و صلیبی شکل در گیاهان تیره Asteraceae گزارش شده است (۲۱). تکوین میکروسپورهای دو کیسه گرده هم جوار، هم زمان است. میکروسپورها در زمان آزاد شدن از تترادها هیچ واکنشی نداشته و دارای یک سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته حجمی قرار گرفته در بخش میانی می‌باشند. هسته‌ها با روش میتوز تقسیم شده و دو هسته نابرابر را به وجود می‌آورند که هسته بزرگتر رویشی و هسته کوچکتر زایشی است بنابر این دانه گرده دو هسته‌ای و سپس دانه گرده دو یاخته‌ای تشکیل می‌شود. نتایج پژوهش‌های Lakshmi و Pullaiah (۲۰) نشان داده است که دانه‌های گرده در مرحله بلوغ سه یاخته‌ای بوده که با یافته‌های پژوهش حاضر متفاوت است.

**تخمک و گامتوفت ماده:** در گونه مورد مطالعه مگاسپور بنی تتراد خطی شکل که به وسیله دیواره کالولزی پوشیده

یاخته‌های آنتیپود علاوه بر اینکه افزایش تعداد پیدا می‌کنند، پایدار بوده و تحلیل نمی‌روند. این یاخته‌ها به صورت T شکل در قطب بنی قرار می‌گیرند (تصویر ۲۴). در این گیاه تقسیمات تخم ضمیمه قبل از تخم اصلی آغاز می‌شود (تصویر ۲۶) و تشکیل بافت آلبوم را بنیان گذاری می‌کند که آلبوم در ابتدا حالت سنوسيتیک دارد. بر اساس مشاهدات و نتایج حاضر در بعضی از گلچه‌ها یاخته‌های آنتیپود باعث تشکیل یک رویان کروی شکل و یک سوسپانسور متصل به آن می‌شود (تصویرهای ۲۶-۲۸) که در قطب بنی استقرار دارد. متعاقباً رویان تشکیل شده طویل شده و تبدیل به یک رویان کم و بیش نامنظم بلند می‌شود (تصویر ۲۸). در چنین مواردی دستگاه تخم تحلیل رفته و در قطب سفتی قابل رویت نیست. در نهایت رشد و نمو رویان آنتیپودی تا تشکیل رویان بالغ در قطب بنی کیسه رویانی ادامه می‌یابد.

## بحث و نتیجه گیری

بساک و گامتوفت ماده: در گونه‌های مورد مطالعه نمو سه لایه‌ای دیواره بساک بر اساس تیپ دو لایه‌ای انجام می‌گیرد (۱۰). یاخته‌های آرکتوسپوری با سیتوپلاسم متراکم و هسته حجمی خودشان قابل تشخیص اند. این یاخته‌ها به صورت مماسی تقسیم شده و تشکیل یاخته جداری بیرونی و هاگزای درونی را می‌دهد (۳۵). ضخیم شدگیهای فیبری لایه مکانیکی با مشاهدات میکروسکوپی به خوبی قابل تشخیص نیست (۳۷). اگرچه وجود لایه میانی به وسیله Pullaiah و Rangaswamy (۲۶) در گیاهان این تیره گزارش شده است، اما بر اساس نتایج حاضر به نظر می‌رسد که در گونه مورد مطالعه لایه میانی نمو پیدا نمی‌کند. یک همبستگی آشکار بین تقسیمات میوزی در یاخته‌های مادر گرده و نمو لایه تاپی بساک وجود دارد که برای سایر گونه‌های این تیره نیز گزارش شده است (۱۴). یاخته‌های لایه تاپی درجه بالایی از پلوریتی را نشان می‌دهند که نمایانگر فعالیت متابولیسمی بالای آنهاست و از این نظر

عدد می‌رسد. در این گلچه‌ها یاخته‌های آنتی پود هیچ نوع نقشی در تولید مثل و رویان زایی نداشته و نقش مهم آنها فقط تغذیه کیسه رویانی از طریق تشکیل مکینه‌ها است (۱۲). در این گلچه‌ها تعداد شش تا هشت یاخته آنتی پود در کیسه رویانی قابل مشاهده است و رویان زایی از نمو تخم اصلی لقادح یافته حاصل می‌شود. در گلچه‌های نوع دوم (تیپ II) یاخته‌های آنتی پود افزایش تعداد پیدا می‌کنند، علاوه بر این آنها به تقسیمات خود ادامه داده و باعث تشکیل یک رویان کروی شکل و یک سوسپانسور متصل به آن می‌شوند که در قطب بنی کیسه رویانی قابل مشاهده است. در عوض دستگاه تخم شامل تخمزا و تشخیص است. در قرینه‌ها تحلیل می‌رود که احتمالاً علت آن عدم تلقیح یاخته تخم زا است. تشکیل رویان از یاخته‌های آنتی پود را باید به عنوان یک حالت نادر از رویان زایی و به نوعی آپومیکسی در نظر گرفت. براساس این مشاهدات و نتایج مطالعات، تفاوت ریختی و ظاهری آشکاری بین این دو نوع گلچه وجود ندارد و هر دو نوع گلچه‌ها از نظر جنبیت هرmafrodیت می‌باشند. اگرچه آپومیکسی برای تعدادی از گیاهان تیره Asteraceae گزارش شده است (۱۱، ۲۵ و ۲۷)، اما این گزارش اولین گزارش پژوهشی در مورد تکوین دانه گرده، تخمک، کیسه رویانی و رویان زایی در *Tripleurospermum* بوده، و به ویژه اولین گزارش در مورد رویان زایی حاصل از یاخته‌های آنتی پود در تیره Asteraceae است.

نشده است، موجب تشکیل کیسه رویانی مونوسپوری تیپ پلی گونوم می‌شود و سه مگاسپور دیگر به سرعت از بین می‌رود. وجود تترادهای خطی در گیاهان این تیره به وسیله پژوهشگران متعددی گزارش شده است (۱۹ و ۲۰ و ۲۶). مگاسپور پایا، کیسه رویانی هشت هسته‌ای را به وجود آورده که سپس به کیسه رویانی بالغ تمایز می‌یابد. در کیسه رویانی بالغ سه یاخته در مجاورت سفت تمایز می‌یابند که شامل یک تخمزا و دو یاخته قرینه است. در این مطالعه هر دو یاخته قرینه در کیسه رویانی بالغ قابل مشاهده است. دو هسته آزاد و قطبی در بخش میانی کیسه رویانی قرار دارند که به سمت دستگاه تخم و قبل از لقادح صورت می‌گیرد و باعث تشکیل هسته ثانویه می‌شود. در این گیاه تقسیمات تخم ضمیمه قبل از تخم اصلی آغاز می‌شود. در کیسه رویانی تیپ پلی گونوم یاخته‌های آنتی پود در قطب مقابل یاخته تخم قرار دارند که معمولاً سه عدد بوده و از نظر اندازه (۵، ۲۱ و ۳۴)، و هم چنین از نظر تعداد (۲۶)، در گونه‌های مطالعه شده این تیره تنوع نشان داده‌اند. بر اساس نتایج حاضر افزایش یاخته‌های آنتی پود از اختصاصات کلیه گلهای گیاه مورد پژوهش است و در کلیه گلچه‌های مورد مطالعه مشاهده گردید. در این نتایج گیاه *Tripleurospermum* دو نوع متفاوت از گلچه‌ها و دو تیپ مختلف از جنین شناسی را نشان می‌دهد. در بعضی از گلچه‌ها (تیپ I) فقط افزایش یاخته‌های آنتی پود مشاهده می‌شود به طوری که تعداد آنها به شش تا هشت

## منابع

- 2- Batygina, T.B. 1987. Embryology of flowering plants: terminology and concepts. USA, Science Publishers.
- 3- Beerentrup, H., Robbelen, G., 1987. Calendula and Coriandrum—new potential oil crops for industrial uses. *Fat Sci. Technol.*, 6: 227–230.
- 4- Bremer, K., 1994. Asteraceae, Cladistics and Classification. Timber Press, Portland, Oregon
- 1- رضا نژاد، ف؛ چهرگانی، ع. ۱۳۸۷. رویان شناسی گیاهان گلدار، واژگان و مفاهیم (ترجمه). انتشارات دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- 5- Cameron, B. G., Prakash, N., 1994. Variations of the megagametophyte in the Papilionoidea. *Advances in legume systematics Struct. Bot.*, 6: 97–115.
- 6- Chaudhury, A.M., Koltunow, A., Payn, T., Luo, M., Tucker, M.R., Dennis, E.S., Peacock, W.J., 2001. Control of early seed development.

- Annual review of cell and developmental biology, 17, 677-699.
- 7- Chehregani, A., Mehanfar, N., 2007. Achene Micro-morphology of Anthemis (Asteraceae) and its Allies in Iran with Emphasis on Systematics. *Inter. J. Agri. & Biol. Sci.*, 9: 486-488.
  - 8- Chehregani, A., Mehanfar, N., 2008. New chromosome counts in the tribe Anthemideae (Asteraceae) from Iran. *Cytologia*, 73: 189-196.
  - 9- Cichan, M. A., Palser, B. F., 1982. Development of normal and seedless achenes in *Cichorium intybus* (Compositae). *American J. of Botany*, 69: 885-895.
  - 10- Davis, G. L., 1968. Apomixis and abnormal anther development in *Calotis lappulacea* Benth. (Compositae). *Australian J. Botany*, 16: 1-17.
  - 11- Davis, G. L., 1964. Embryological studies in the compositae. IV. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Brachycome ciliaris* (Labill.). *Less. Aust. J. Bot.* 12: 142-151.
  - 12- Diboll, A. G., 1968. Fine structural development of the megagametophyte of Zea mays following fertilization. *Am. J. Bot.*, 55: 787-806.
  - 13- Earle, F. R., Miklojajczak, K. L., Wolf, I. A., 1964. Search for new industrial oils: X seed-oils of the Calendulae. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41: 345-347.
  - 14- Gustafsson, L. 1946. Apomixis in higher plants. Part I. The mechanism of apomixis. – *Acta Univ. Lund*, 42: 1-67.
  - 15- Harling G., 1951. Embryological studies in the Compositae. 2. Anthemideae-Chrysantheminae. *Acta Horti Bergiani*, 16: 1-56
  - 16- Hind, D. J. N., Jeffrey C. & Pope G. V. (eds.), 1995. Advances in Compositae systematics. - Royal Bot. Gardens, Kew.
  - 17- Hu, S.Y., 1982. Embryology of Angiosperm. High Education Press, Beijing, p 30 (in Chinese).
  - 18- Johri, B. M., Ambegaokar, K., Srivastava, P. S., 1992. Comparative embryology of Angiosperms. Springer-Verlag. Berlin. Germany.
  - 19- Kapil, R. N., Bhatnagar, A. K., 1981. Ultrastructure and biology of female gametophyte in flowering plants. *Cytology*, 70: 291-337.
  - 20- Lakshmi, S. P. and Pullaiah, T., 1979. Embryology of *Senecio tenuifolius* Burm. F. (Asteraceae). *Taiwania*, 32: 208-213.
  - 21- Maheshwari, P., 1950. An Introduction to the Embryology of Angiosperms. Mc Graw-Hill, New York.
  - 22- Pacini, E., Franchi, G. G. and Hesse, M., 1985. The tapetum: its form, function and possible phylogeny in Embryo-phyta. *Plant Sys. and Evolut.* 149: 155-185.
  - 23- Pan, K.Y., Wen, J., Zhou, S. L., 1997. Embryological study on *Mosla chinensis* (Lamiaceae). *Acta Bot. Sin.*, 39: 111-116.
  - 24- Pandey, B. P., 2001. A textbook of botany, Angiosperms. Taxonomy, Anatomy, embryology (including tissue culture) and economic botany. Mc Graw Hill.
  - 25- Pullaiah, T. 1979. Studies in the Embryology of Compositae. IV. The Tribe Inuleae. *American J. of Botany*, 66: 1119-1127.
  - 26- Rangaswamy, V., Pullaiah, T., 1986. Studies in the embryology of *Senecio candicans* Dc. (Compositae). *J. Indian Botanical Society*, 65: 509-512.
  - 27- Reiser, L., Fischer, R. L., 1993. The ovule and the embryo sac. *Plant Cell*, 5: 1291-1301.
  - 28- Richards A. J., 1997. Plant breeding systems. Chapman and Hall.
  - 29- Shamrov, I., 1998. Ovule classification in flowering plants- new approach and concepts. *Botanische Jahrbucher fur Systematik.*, 120: 377-400.
  - 30- Torrell, M., Garcia-Jacas N., Susanna A. and Valles J., 1999. Phylogeny of *Artemisia* (Asteraceae-Anthemideae) inferred from nuclear ribosomal DNA (ITS) sequences. *Taxon*, 48: 721-36.
  - 31- Valles, J., Garnatje, T., Garcia, S., Sanz, M. and Korbkov, A. A., 2005. Chromosome numbers in the tribes Anthemideae and Inuleae (Asteraceae). Kazakhstan. *Bot. J. of the Linnean Society*, 148: 77-85.
  - 32- Valles, J., Torrell, M., Garcia-Jacas, T., Yilatersana, N. and Susanna, A. 2003. The genus *Artemisia* and its allies: phylogeny of subtribe Artemisinae (Asteraceae) based on nucleotide sequence on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS). *Plant Biol.*, 5: 274-278.
  - 33- Watanabe, W. 2002. Index to chromosome numbers in Asteraceae. <http://www-asteraceae.cla.kobe-u.ac.jp/index.html>
  - 34- Xiao, D. X., Yuan, Z., 2006. Embryogenesis and seed development in *Sinomanglietia glauca* (Magnoliaceae). *J. Plant Res.*, 119: 163-166.
  - 35- Xue, C.Y., Li, D.Z., 2005. Embryology of *Megacodon stylophorus* and *Veratrilla baillonii* (Gentianaceae): descriptions and systematic implications. *Bot. J. Linn. Soc.* 147, 317-331.
  - 36- Yeung, E. C., 1984. Histological and histochemical staining procedures. In: Vasil, I. K. (ed.) Cell culture and somatic cell genetics of plants. Orlando. Florida : Academics Press. pp. 689-697.

- 37- Yurukova-Grancharova, P., Robeva-Davidova, P. and Vladimirov, V., 2006. On the embryology and mode of reproduction of selected diploid species of *Hieracium* s.l. (Asteraceae) from Bulgaria. *Flora*, 201: 668-675.

## **Embryology of *Tripleurospermum disciforme*: New and rare type of embryogenesis**

**Chehregani A.K.<sup>1</sup>, Zarre Sh.<sup>2</sup>, and Hajisadeghian S.<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup> Biology Dept., Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of IRAN**

**<sup>2</sup> Plant Biology Dept., Faculty of Biology, University of Tehran, Tehran, I.R. of IRAN**

### **Abstract**

Embryological characteristics of *Tripleurospermum disciforme* were studied in this research. The flowers and buds in different developmental stages were removed, fixed in FAA70, stored in 70% ethanol, embedded in paraffin and sectioned at 7-10 µm with a microtome. Staining was carried out with PAS and contrasted with Hematoxylin. Results indicated that anthers are tetrasporangiate and anther tapetum is of the secretory type. Pollen tetrads are tetrahedral and tetragonal. Pollen grains are 2-celled when shed. Ovule is anatropous, unitegmic and tenuinucellate. Endothelium is uniseriate. Embryo sac development is of the *Polygonum* type. Antipodal cells increase up to 6-8 and their nuclei become polyploid. Results of this research showed that embryogenesis of *Tripleurospermum disciforme* should be regarded as exceptional type. There are two type of embryogenesis. In some florets, that are hermaphroditic, embryo sac was developed as *Polygonum* type with increasing of antipodal cells and zygotic embryogenesis are in current. But in some florets, that are also hermaphroditic, antipodal cells were increased and they are large in size with condense cytoplasm. They are long-lived and cause to form embryo without fertilization. In these cases the egg apparatus were degenerated due to underutilization of oospher.

**Keywords:** Asteraceae, Microsporogenesis, Megasporogenesis, Ovule, Embryogenesis, *Tripleurospermum*