

تکوین میکروگامتوفیت در *Leucanthemum vulgare* L.

زهرا بقایی فر*

* گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، همدان، ایران

*Email: baghaeifar@pnuhp.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۰۱

چکیده

Leucanthemum vulgare از تیره مرکبان، جزء گیاهان زینتی فضای سبز است، اغلب جهت استفاده های دارویی و صنایع بهداشتی آرایشی کاربرد دارد. بررسی تکوین میکروگامتوفیت این گیاه از نظر نقشی که در تکثیر گیاه دارد و با توجه به اهمیت فراوان این گیاه از دیدگاه دارویی و صنعتی جالب توجه است. بدین منظور گل ها و غنچه های کاشته شده در فضاهای سبز شهر همدان در مراحل مختلف نموی برداشت، پس از تثبیت در FAA، تا برش گیری در محلول الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. نمونه ها پس از گذراندن مراحل آماده سازی و غالب گیری در پارافین با دستگاه میکروتوم برش گیری گردیدند. رنگ آمیزی مضاعف با محلول همتوکسیلین و انوزین الکی ۷۰٪ انجام شد و بررسی برش های میکروتومی با میکروسکوپ نوری صورت گرفت. نتایج نشان داد که بساک ها تتراسپورانژی و تکوین گرده ها در بساک ناهمزمان است. دیواره بساک جوان از اپی درم، اندوتسیوم، لایه میانی و تاپی تشکیل شده است. ولی لایه میانی در مرحله تترادهای میکروسپوری تجزیه می گردد. دیواره بساک بالغ تنها از اندوتسیوم تشکیل شده است که دارای ضخیم شدگی فیبری است. تترادهای میکروسپوری با فراوانی بیشتر از نوع تترالهدرال (هرمی) است. سلول های لایه تاپی به صورت دو یا چند هسته ای درشت بوده و هر دو حالت ترشچی و آمیبی وجود دارد. دانه های گرده بالغ در زمان انتشار یک یا دو هسته ای، دارای شکاف رویشی و تزئینات خاردار است.

کلیدواژه ها: تکوین، تیره آفتابگردان، دانه گرده، گل مینا، لایه تاپی

مقدمه

که با بیش از ۲۰۰۰۰ گونه پراکنش جهانی دارد. طبق گزارشات موجود، این تیره با ۲۳۰۰۰-۳۰۰۰۰ گونه گیاهی در بین تیره های مختلف گیاهان گلدار هم از

تیره مرکبان (Asteraceae) یکی از تیره های بزرگ و پیشرفته گیاهان دو لپه ای به شمار می آید، به نحوی

می‌رسانند. روغن گل مینا حاوی اسیدهای چرب ضروری از نوع اسید لینولئیک (۷۰ درصد) و اسید گامالینوئیک (۹ درصد) می‌باشد که برای رشد و تکثیر سلول‌های بدن ضروری هستند.

با توجه به ارزش دارویی، این گیاه به منظور مطالعه میکروسپوروزیز در پژوهش حاضر انتخاب شده است. بر اساس مطالعات مرجع شناسی صورت گرفته، تا کنون پژوهشی در زمینه تکوین میکروگامتوفیت گل مینا صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه تکوین بساک و مادگی در گل مینا، غنچه‌ها در مراحل مختلف نموی از پارک‌ها و فضای سبز شهر همدان جمع‌آوری شدند. و بلافاصله در محلول تثبیت کننده FAA برای مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت تثبیت و سپس در الکل ۷۰٪ نگهداری شدند. نمونه‌ها ابتدا آماده‌سازی شده و پس از قالب‌گیری در پارافین، با میکروتوم مدل DS 4055 به ضخامت ۵ الی ۷ میکرومتر برش‌گیری گردید. رنگ‌آمیزی با رنگ هماتوکسیلین و ائوزین الکلی انجام گرفت. هر یک از مراحل تکوین بساک و تخمک در چندین برش بوسیله میکروسکوپ نوری Labomed FX5500 مجهز به دوربین دیجیتال بررسی شد. برای هر مرحله حداقل ۵۰ الی ۷۰ غنچه برش‌گیری و سپس از بهترین آنها عکس برداری شد.

نتایج

میکروسپوروزایی و نمو گامتوفیت نر در گل مینا

سلول‌های بافت هاگزای حاصل از سلول‌های آرکتوسپور مستقیماً به میکروسپوروسیست (سلول‌های مادر گرده) تمایز پیدا می‌کنند. میکروسپوروسیست‌ها

نظر فراوانی گونه‌ها و هم از نظر پراکنش وسیع و متنوع بویژه در مناطق معتدل و حاره‌ای رکورددار است [۱۱،۱۳،۱۴،۲۷]. زیر تیره پرتوآساها دارای جنس‌های بسیاری است که در طایفه‌های متعدد قرار دارند. یکی از مهمترین این طایفه‌ها، معروف به طایفه بابونه (آنتموئیده) است که دارای ۱۰۹ جنس و ۱۷۴۰ گونه می‌باشد و دارای ویژگی‌های ریخت‌شناختی است که از نظر تاکسونومیکی در سطح طایفه ارزشمند هستند. مرکز انتشار این طایفه بیشتر نواحی مدیترانه‌ای و آفریقای جنوبی است [۴]. طایفه آنتموئیده به ۱۲ زیر طایفه تقسیم می‌شود [۵]. گونه لئوکانتوم وولگار در جنس لئوکانتوم، زیر خانواده آستروئیده و طایفه آنتموئیده آ قرار گرفته است.

گل مینا یکی از زیباترین گل‌های زینتی پارک‌ها، باغچه‌ها و شاخه‌های بریده آن در گل‌فروشی‌ها کاربرد بسیار دارد. موسم گلدهی گل مینا از نیمه اردیبهشت تا اواخر شهریورماه است. این گیاه چند ساله است. ارتفاع آن ۷۵ سانتی‌متر تا یک متر هم می‌رسد. گل مینا در دسته weed plant و جزء wild flowers قرار می‌گیرد. گل مینا با نام علمی *Chrysanthemum leucanthemum* L. یا *Leucanthemum vulgare* L. است که به صورت کاشته شده در ایران وجود دارد و بیشتر بومی آمریکای شمالی، انگلیسی‌ها به این گونه *Oxe - eye - daisy* می‌گویند [۳].

این گیاه دارای خاصیت دارویی است و در درمان سردردهای میگرنی بسیار موثر است. از دانه‌ی این گیاه روغن گل مینا یا EPO تهیه کرده در کشورهای اروپایی در داروخانه بنام کپسول اپو به فروش می‌رسد. علاوه بر این مخلوط روغن گل مینا + ویتامین E به نام Efamol و نیز مخلوط روغن گل مینا + روغن ماهی را به نام Marin cap به فروش

مانند است و تمام سطح دانه گرده را می پوشاند. در مرحله نهایی، زمانی که دانه های گرده کاملاً بالغ شده و آماده رها شدن هستند تمام لایه های تاپی و میانی تحلیل رفته و فقط لایه مکانیکی باقی مانده است. این لایه حالت فیبری پیدا کرده. (تصاویر ۱۷ تا ۲۲)

بحث

بررسی نتایج حاصل از مطالعه میکروسپوروزنز در گل مینا

در گل مینا همانطور که در گیاهان خانواده مرکبان شایع است، گل آذین کپه ای شامل گلچه های لوله ای و زبانه ای است. طی نمو بساک که در گلچه های لوله ای که زایا هستند صورت می گیرد [۱۳-۱۴]، دیواره بساک به صورت لایه لایه تشکیل می شود که البته در مراحل اولیه چندان قابل تشخیص نیستند و به تدریج مجزا می گردند و این تمایز بر اساس تیپ دو لپه ای ها صورت می گیرد [۸-۲-۱]. درون بساک بافت هاگزا از یاخته های آرکتوسپوری تمایز می یابد [۲۴] که در آن سلول های میکروسپوروسیت (مادر دانه گرده) متمایز می شوند، متحمل تقسیم شده به تدریج در بخش پیرامونی بساک لایه تاپی پرستار که به عنوان تغذیه کننده میکروسپورها عمل خواهد کرد تمایز می یابد. در اغلب گونه های گیاهی در این تیره مشاهده می شود که ضمن پیشروی مراحل تکوین میکروسپورها، تاپی ترشحی به تاپی آمیبی تغییر شکل می یابد [۲۱]. بدین ترتیب که دیواره های این سلول ها به تدریج تحلیل رفته تجزیه می گردد و مواد مغذی درون آنها به درون حفره بساک که میکروسپورها در آن در حال تکوین هستند آزاد می شود. از این نظر یافته ها در گل مینا مشابه گزارشات سایر محققین است [۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۳] و با یافته های برخی دیگر که

دارای سیتوپلاسم متراکم و اندازه بزرگ تر و هسته های مشخص هستند و از سلول های بافت احاطه کننده کاملاً مشخص و متفاوت می باشند. در طی میوز لایه کالوزی اطراف میکروسپوروسیت ها شروع به تشکیل می کند. سلول های مادر میکروسپور وارد مرحله تقسیم میوز شده و طی یک تقسیم میوزی ابتدا ۲ و بعد ۴ سلول هاپلوئید (n کروموزومی) به وجود می آورند که به ترتیب دیاد و تتراد نامیده می شوند (تصاویر ۱ تا ۱۶).

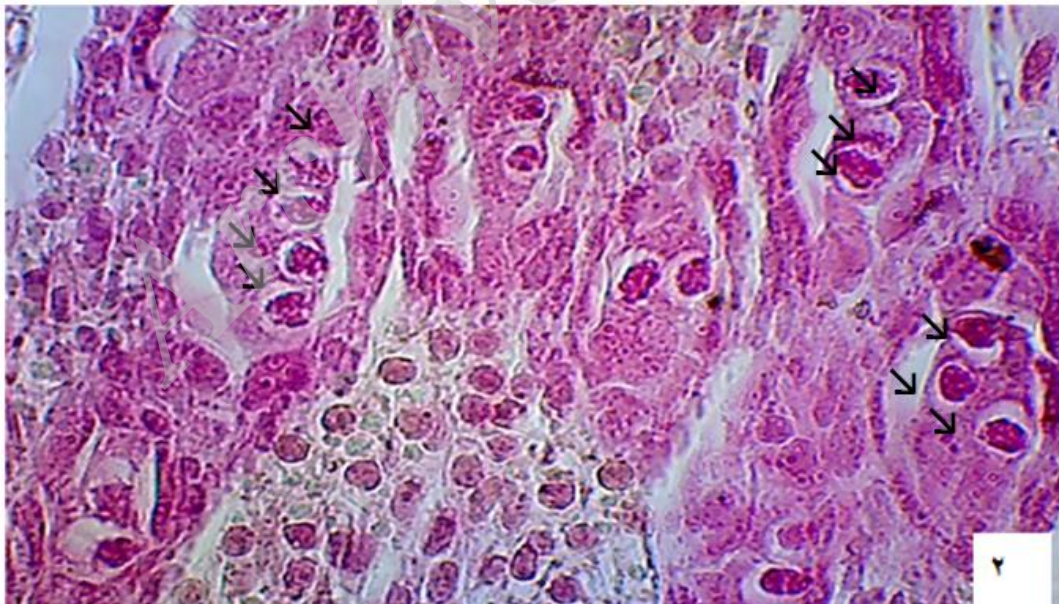
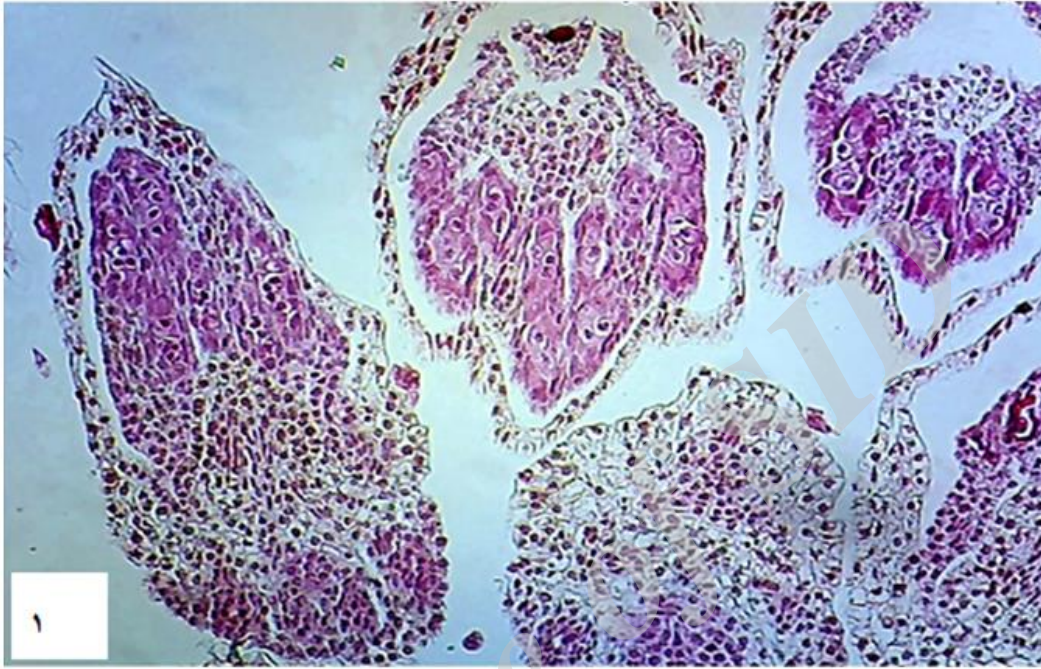
میوز در هر میکروسپور آغاز شده و پروفاز I (تصاویر ۷ تا ۱۰)، متافاز I (تصویر ۱۱)، آنافاز I (تصویر ۱۲) و تلوفاز I (تصویر ۱۳) و بعد میوز II و در نهایت بعد از تلوفاز II تترادها تشکیل می شود (تصویر ۱۴). لایه کالوزی که تشکیل آن از مرحله پروفاز I شروع شده در مرحله تتراد کاملاً مشخص است و دور تترادها را می پوشاند و هنگامی که موناها به وجود می آیند لایه کالوزی دور آنها مشاهده می شود. بین هسته های تلوفاز II دیواره به وجود نمی آید. پس از میوز II چهار هسته میکروسپور به طور هم زمان به چهار سلول تبدیل می شود. میکروسپورها در زمان آزاد شدن هنوز واکوئوله نشده اند.

تترادها در گل مینا بیشتر از نوع تتراهدرا (استقرار میکروسپورها در یک سطح نیست و آرایش تترادها حالت هرمی شکل دارند) و کمتر از نوع تترگونال (استقرار میکروسپورها در یک سطح است) (تصاویر ۱۵ و ۱۶).

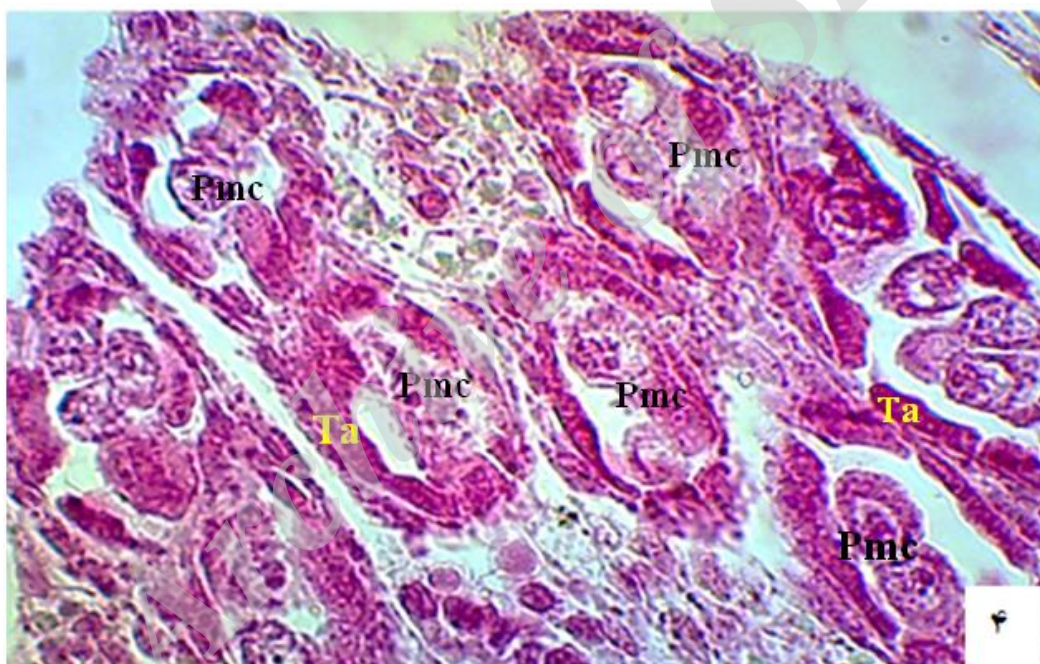
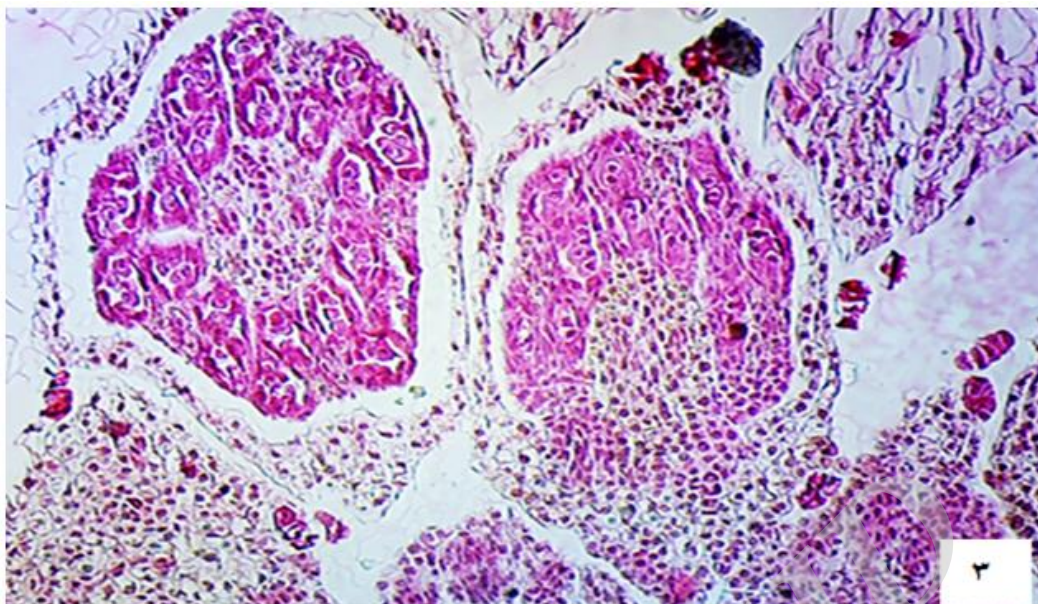
شکل نهایی دانه های گرده در مینا به صورت کاملاً گرد است. به تدریج اگزین بر روی میکروسپورها تشکیل می شود و بعد از تشکیل اگزین، انتین به سمت سیتوپلاسم شروع به تشکیل می کند. تزیینات اگزین بر روی میکروسپورها به وجود می آید این تزیینات خار

اغلب شامل تزئینات خاردار ویژه اعضای خانواده مرکبان می‌باشد [۱۰] و در گیاه مورد مطالعه نیز به طور محسوس مشاهده شد.

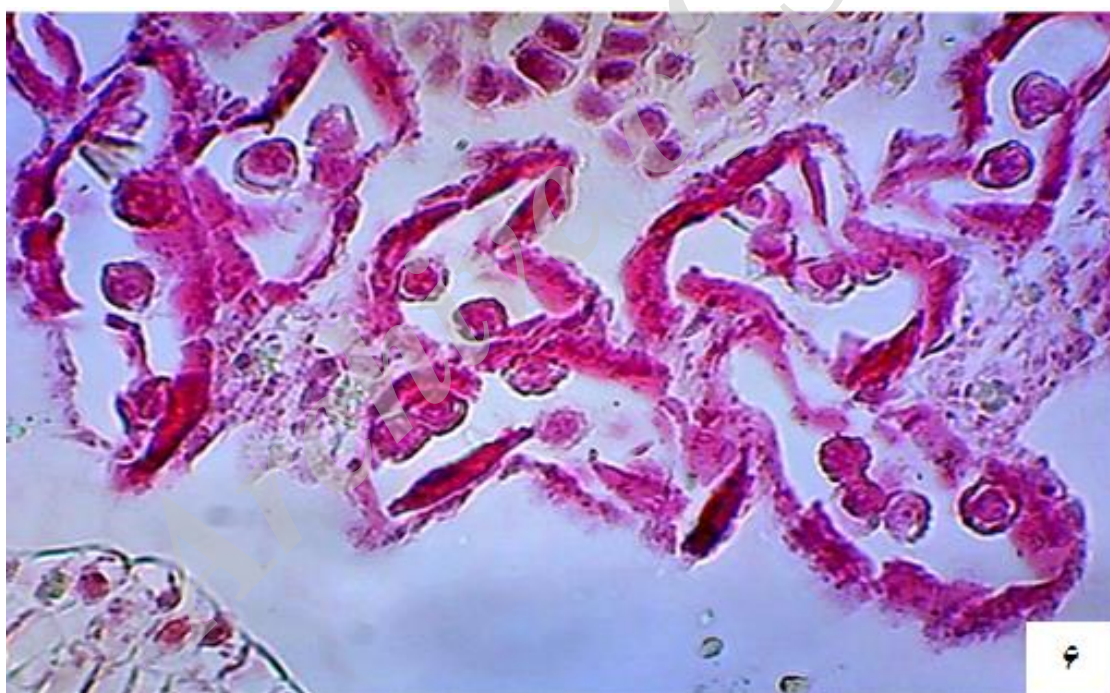
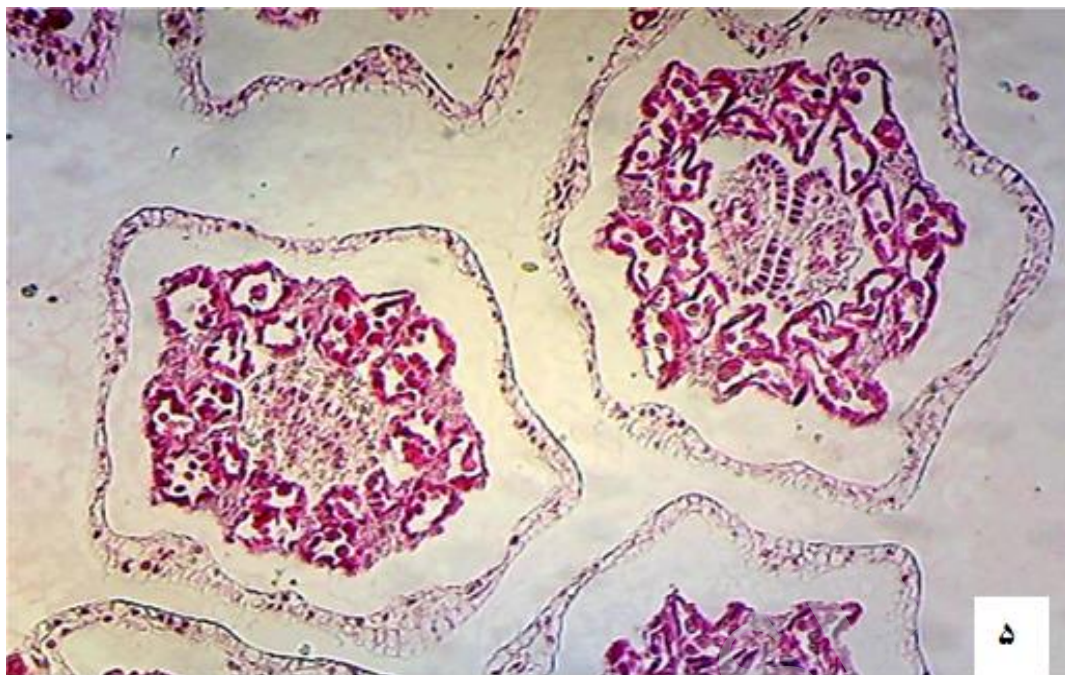
تنها تاپی ترشچی یا آمیبی را در اعضای دیگری از این تیره گزارش کرده‌اند مغایرت دارد [۱،۶]. در این مرحله است که به تدریج تشکیل لایه‌های دیواره‌ای دانه‌های گرده محسوس می‌گردد. این پوشش گرده‌ای



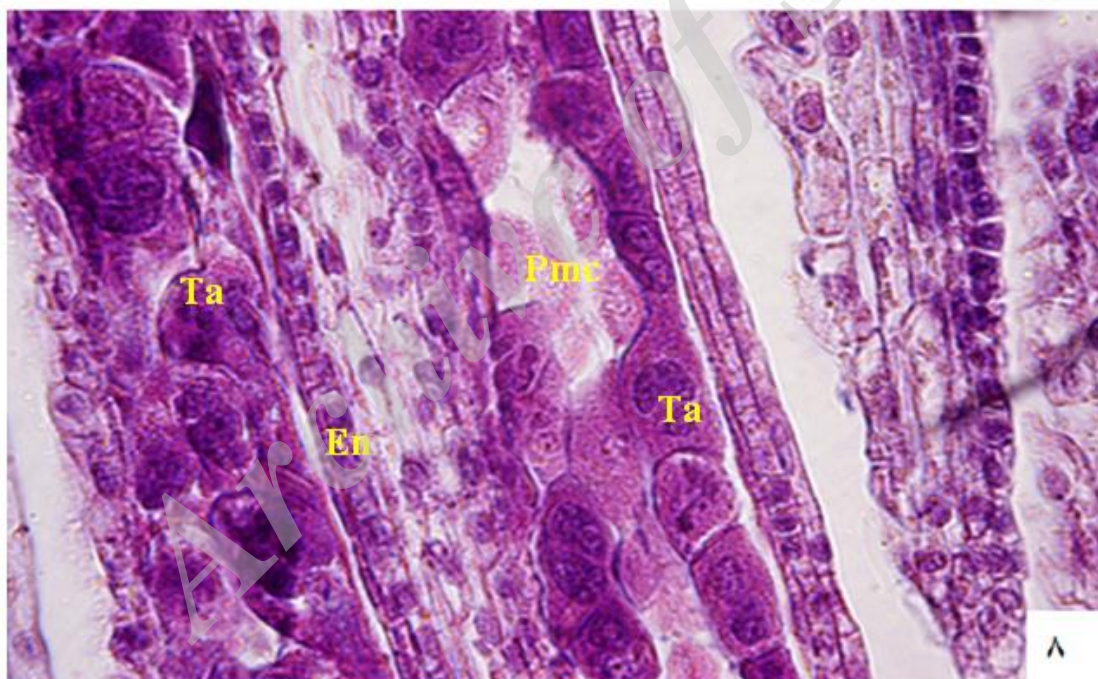
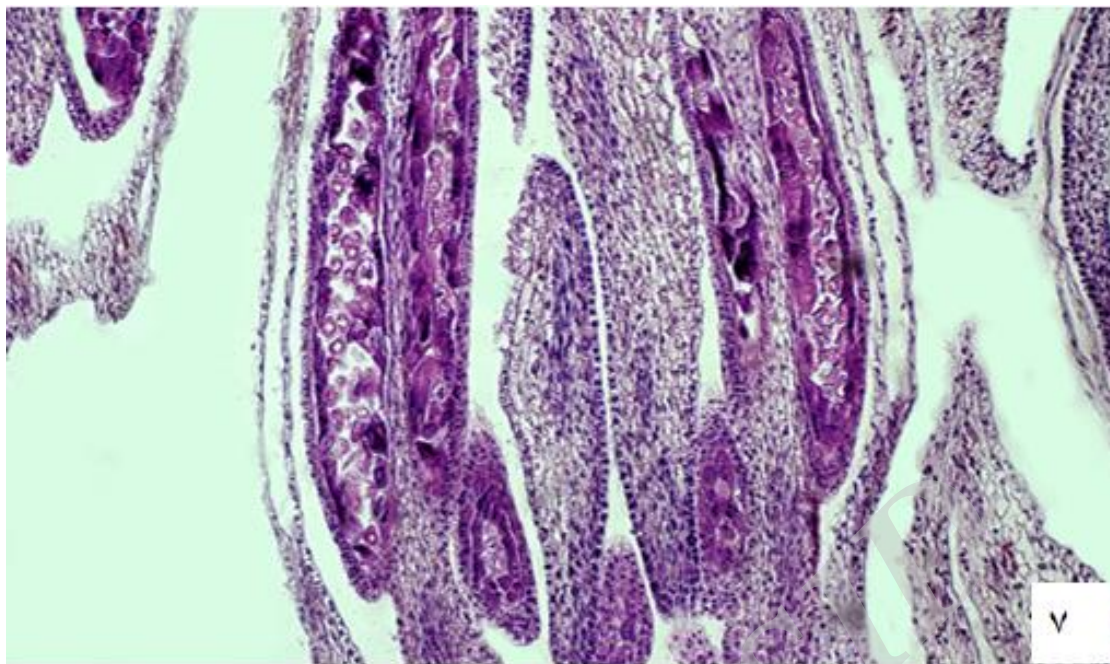
تصاویر ۱ و ۲- برش عرضی گلچه‌های لوله‌ای گل مینا که در هر گلچه بساک‌های در حال تمایز در مراحل اولیه مشاهده می‌شوند. (رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین)، در تصویر ۲، درون بساک‌ها سلول‌های آرکتوسپوری در حال تمایز به میکروسپوروسیت‌ها (۳) قابل تشخیص‌اند.



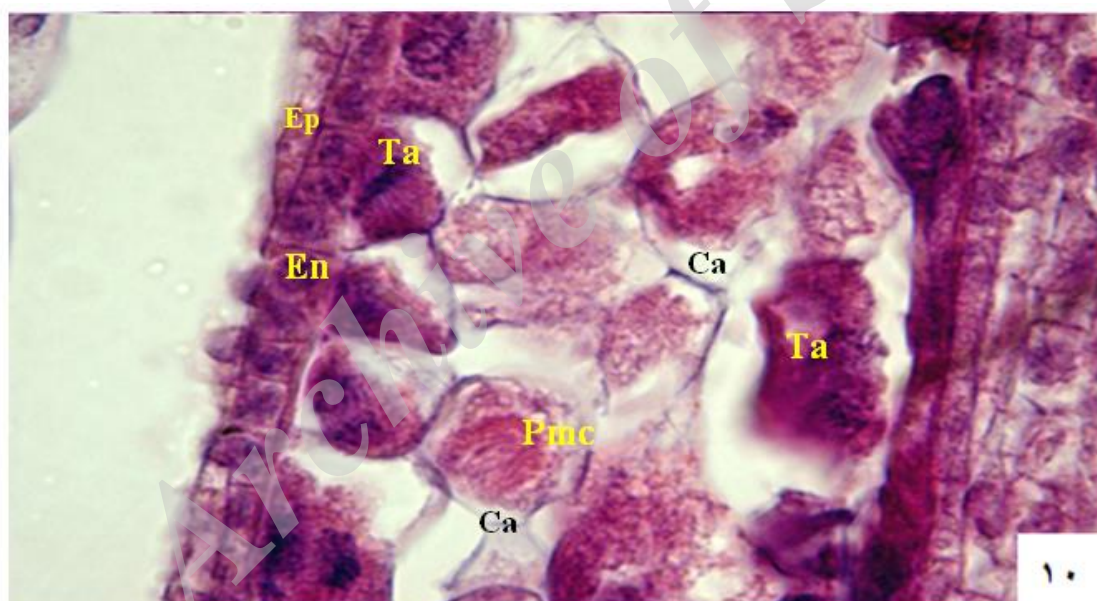
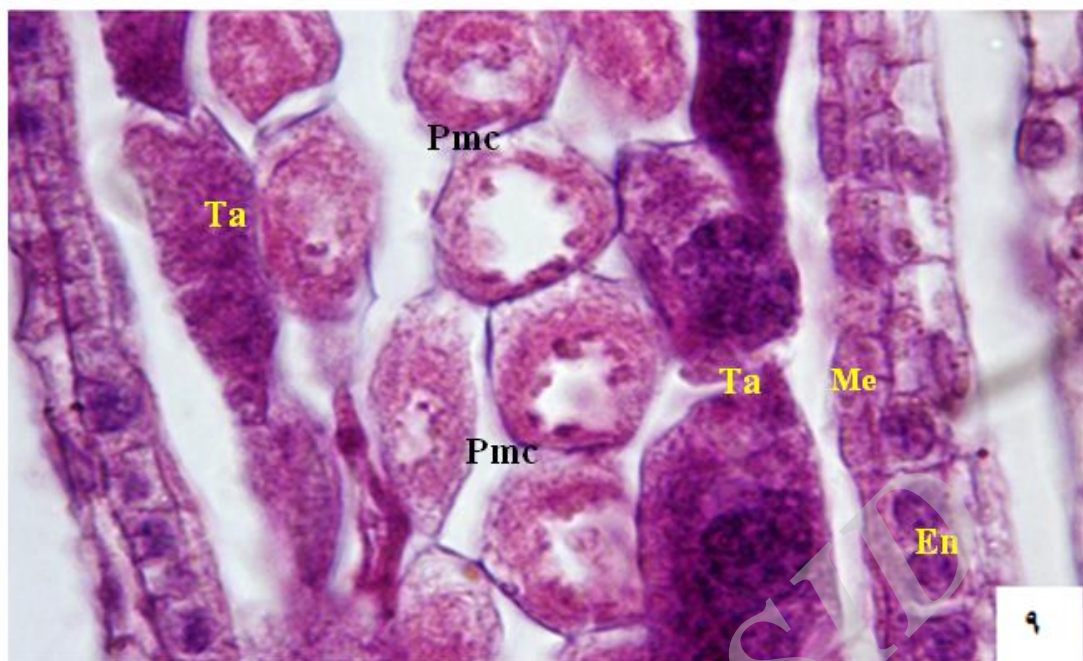
تصاویر ۳ و ۴- برش عرضی گلچه‌ها که در آنها بساک‌ها بیشتر نمو یافته‌اند و به تعداد ۵ عدد در هر گلچه قابل تشخیص‌اند. در تصویر ۴، سلول‌های مادر میکروسپور و لایه‌های بساک از جمله تاپی قابل مشاهده است. بساک تراسپورانژی پروانه‌ای شکل با چهار کیسه‌گرده هم به وضوح مشاهده می‌گردد. Ta: تاپی؛ Pmc: سلول مادر گرده.



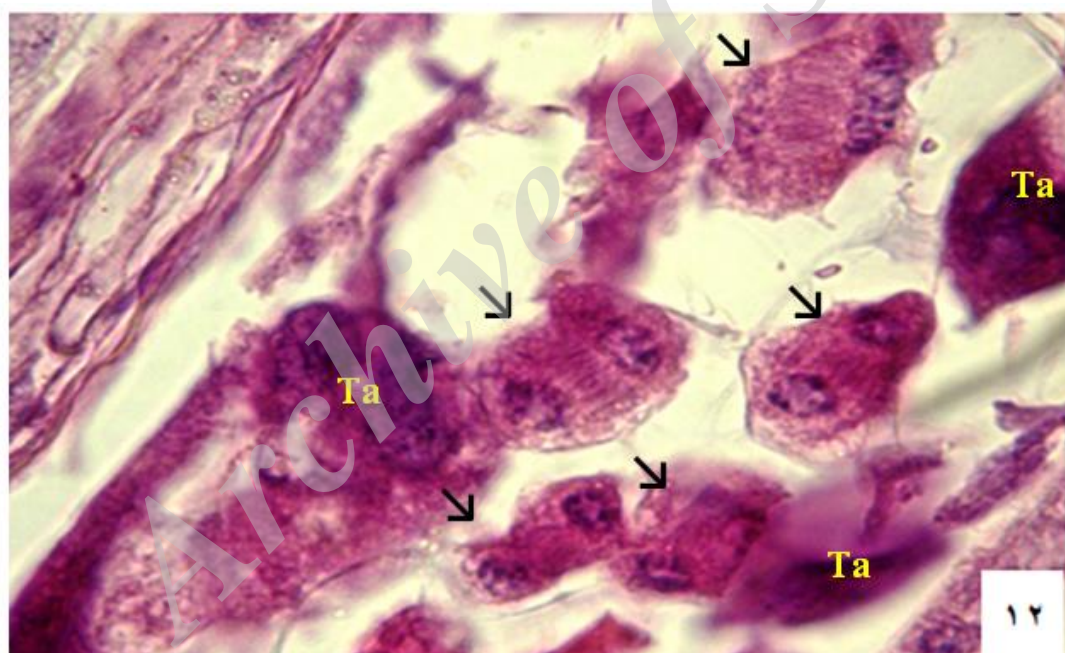
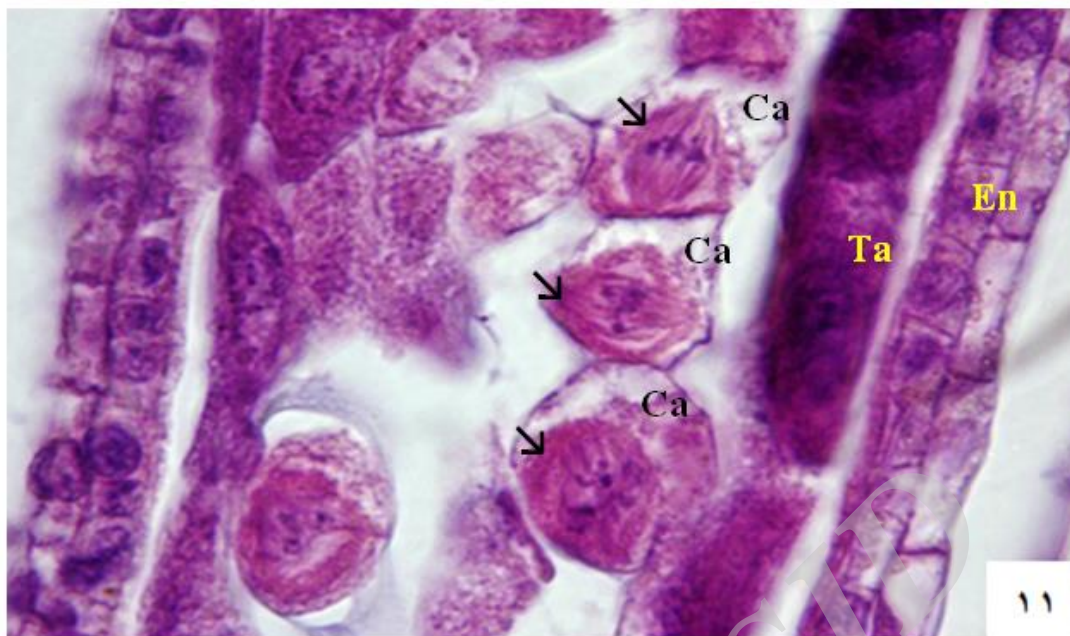
تصاویر ۵ و ۶- برش عرضی گلچه ها با بساک های حاوی میکروسپورها، مونادها که لایه کالوزی دور آنها را گرفته است. مونادها هنوز واکوئوله نشده‌اند.



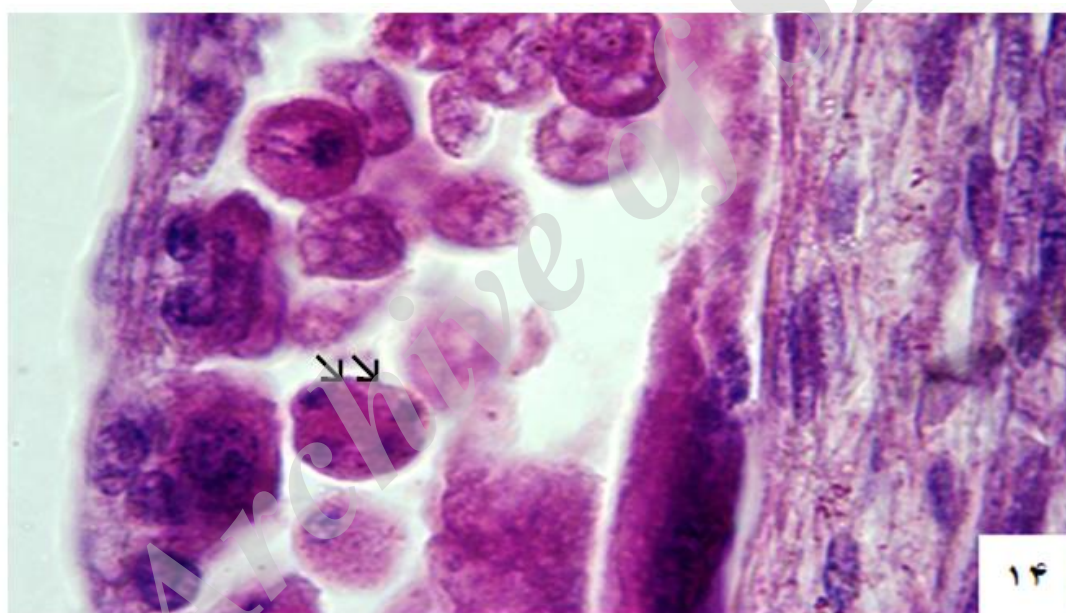
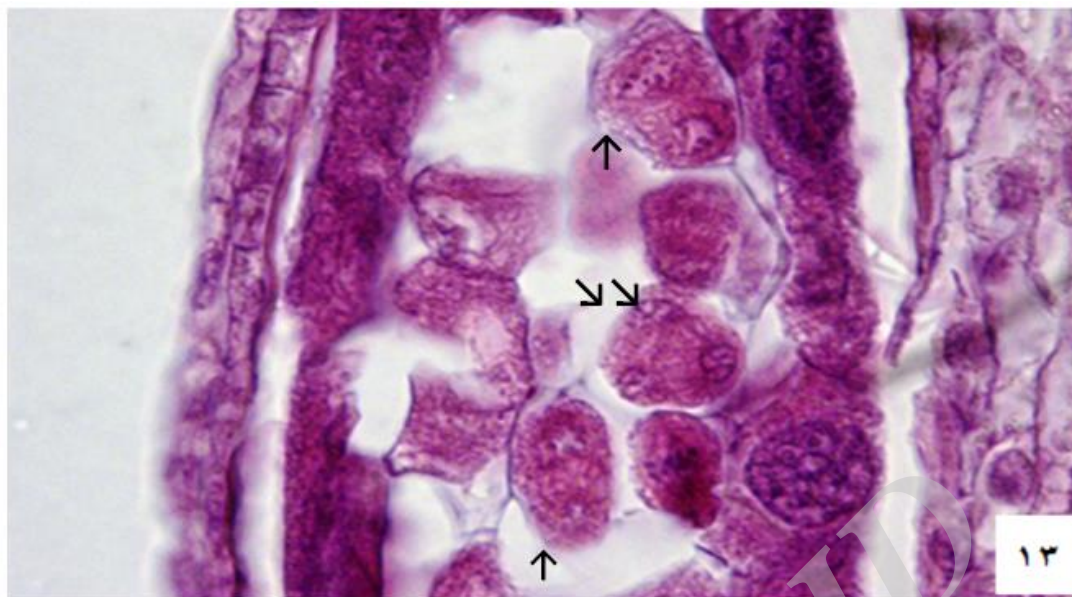
تصاویر ۷ و ۸- برش طولی بساک، لایه های دیواره بساک به اضافه سلول های مادر گرده در مرحله پیش از تقسیم قابل مشاهده اند. سلول های تاپی دو یا چند هسته ای با هسته های درشت که نشان از درجه بالای پلویدی است.
En: لایه مکانیکی (اندوتسیوم)؛ Ta: تاپی؛ Pmc: سلول مادر گرده



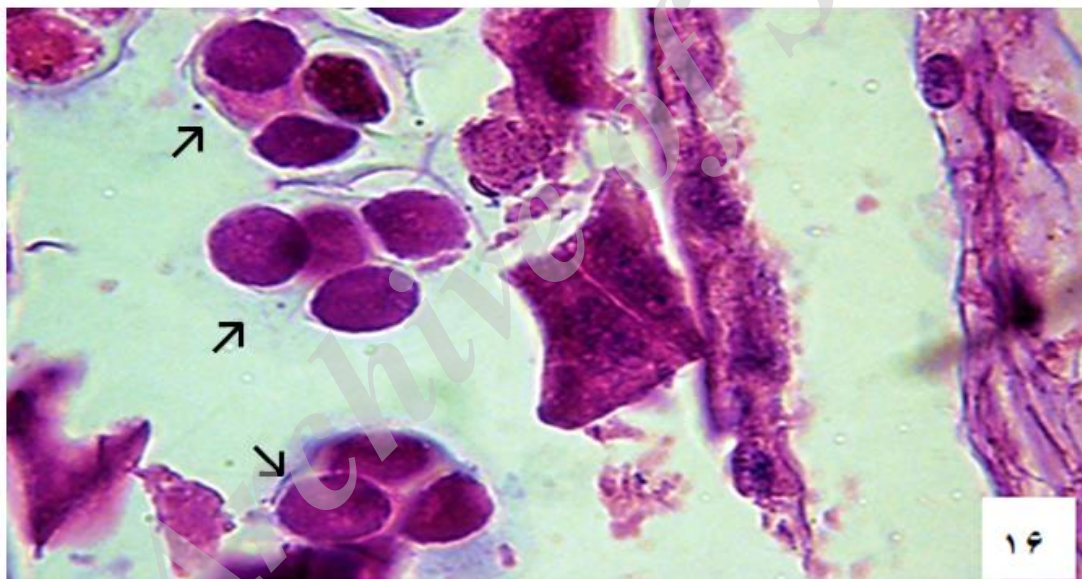
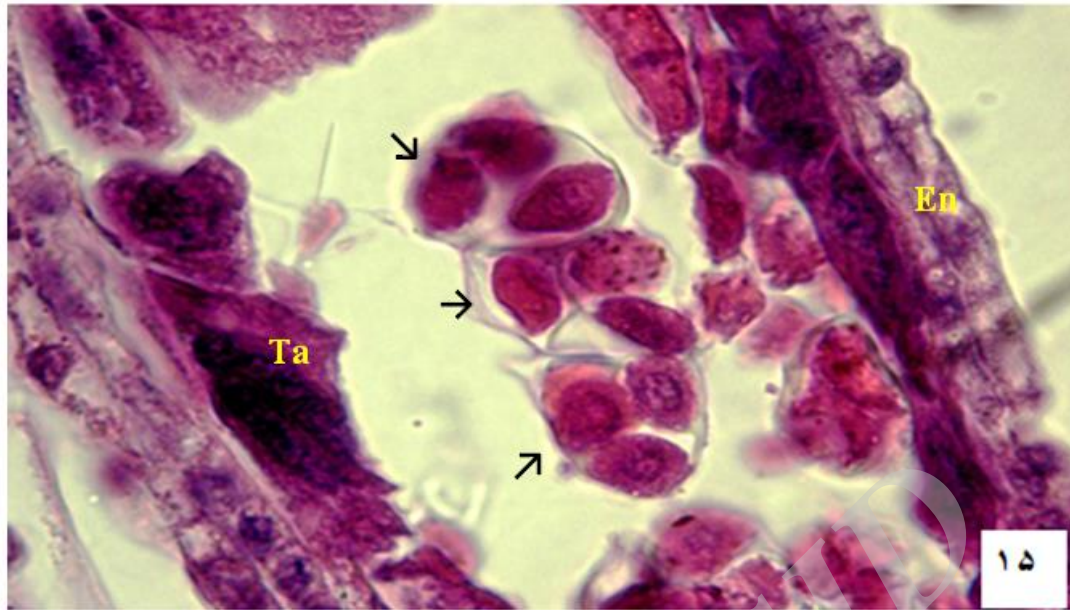
تصاویر ۹ و ۱۰: برش طولی بساک نشانگر یک کیسه گرده که در آن سلول‌های مادر گرده در آغاز تقسیم مرحله پروفاز قابل مشاهده‌اند. لایه کالوزی در اطراف آنها در حال تشخیص بوده، سلول‌های تاپی نیز به ظاهر متحمل تقسیم هستند.
 Ep: اپیدرم؛ En: لایه مکانیکی (اندوتسیوم)؛ Ta: تاپی؛ Me: لایه میانی؛ Pmc: سلول مادر گرده؛ Ca: لایه کالوز؛



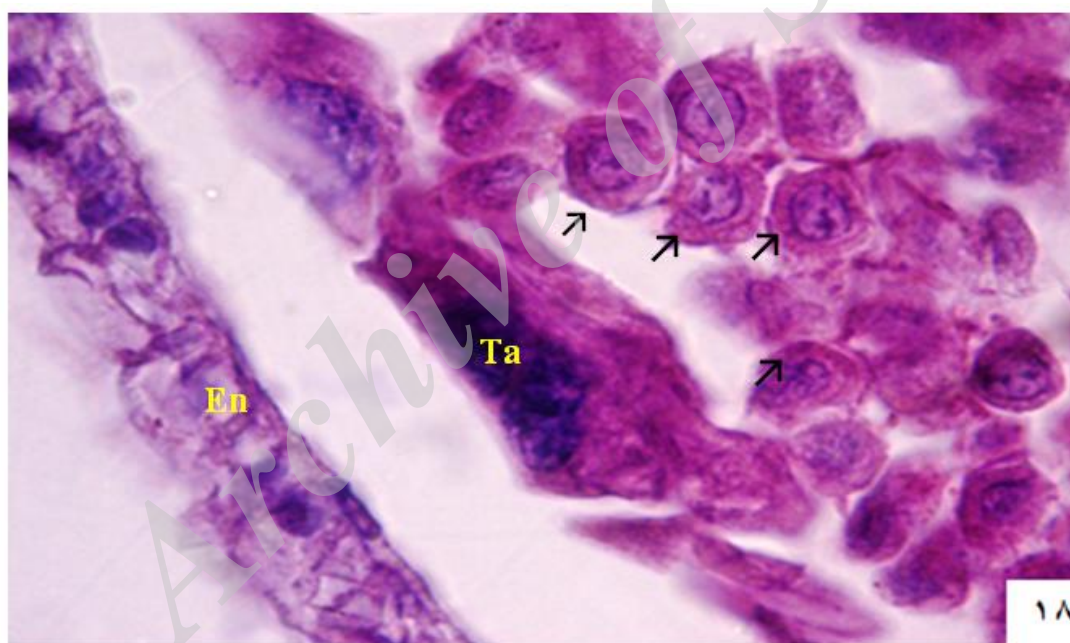
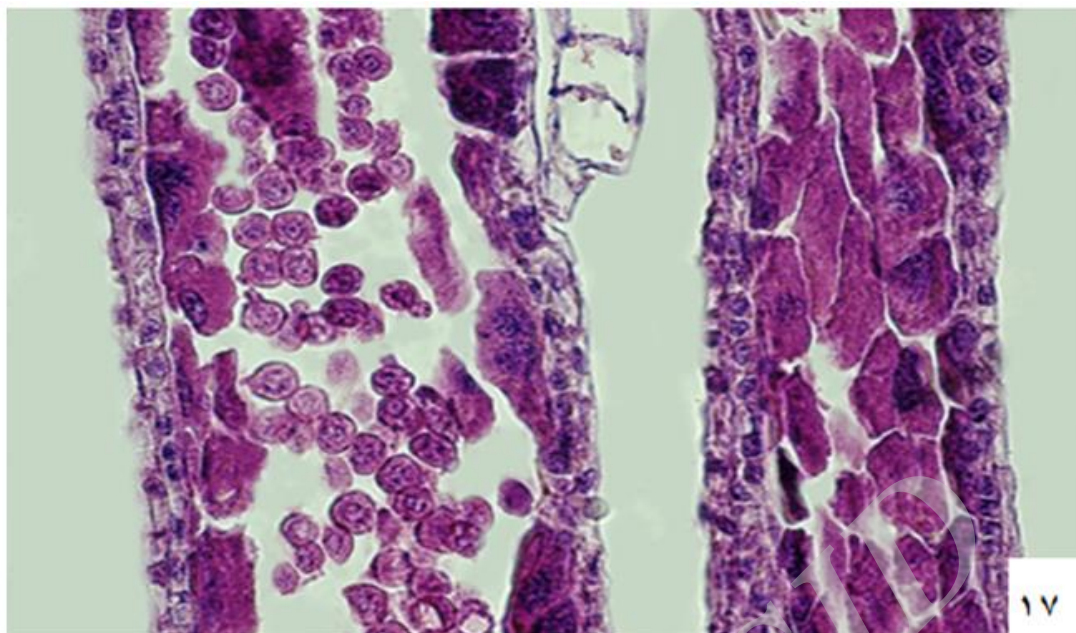
تصویر ۱۱: بخشی از برش کیسه گرده که در آن سلول‌های مادر گرده در مرحله متافاز میوز (لا) می باشند. لایه‌های دیواره بساک، لایه کالوزی قابل مشاهده‌اند. تصویر ۱۲: بخشی از برش کیسه گرده که در آن سلول‌های مادر گرده در مرحله آنافاز و تلوفاز میوز (لا) می باشند. لایه کالوزی همچنان در اطراف سلول‌های در حال تقسیم قابل مشاهده است. سلول‌های تاپی حالت آمیبی پیدا کرده اند و از کناره ها به بخش‌های درونی تر حفره بساک کشیده شده اند و سلول‌های در حال تقسیم را در برمی گیرند. En: لایه مکانیکی (اندوتسیوم)؛ Ta: تاپی؛ Ca: لایه کالوز؛



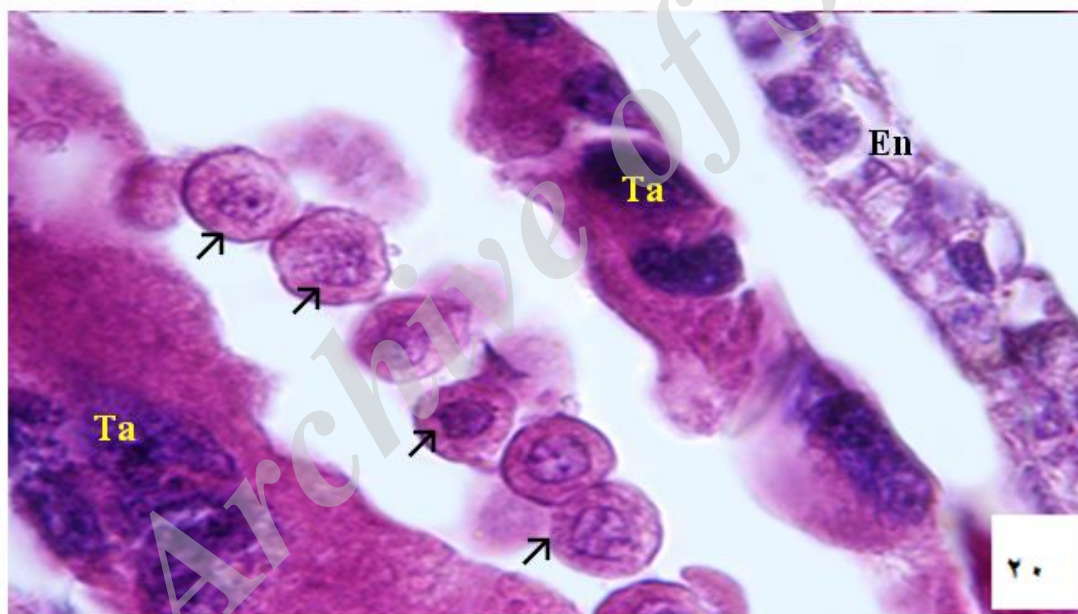
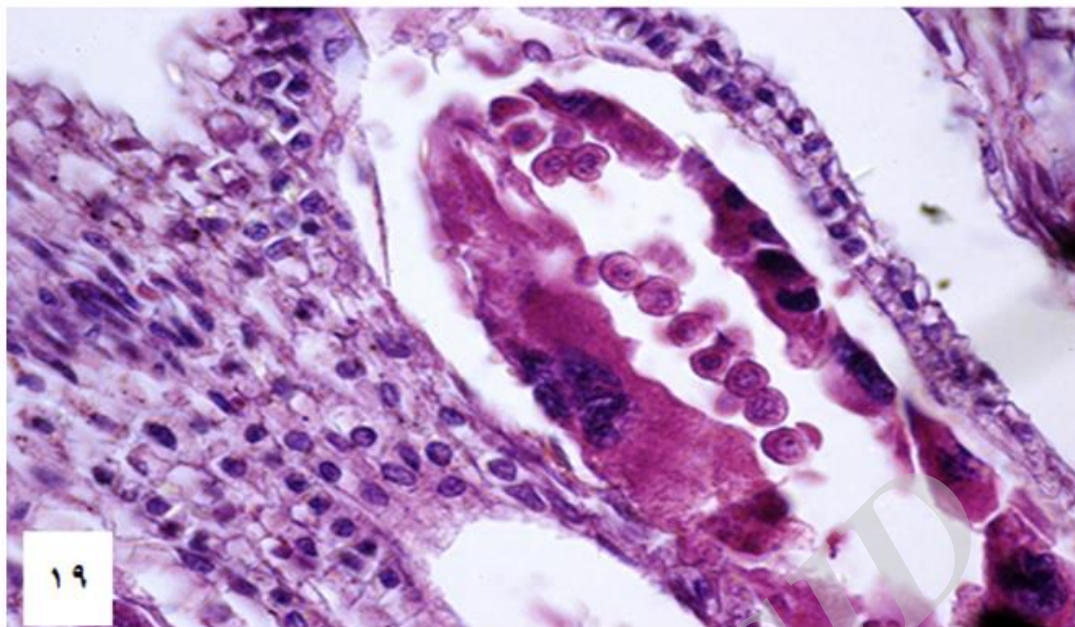
تصاویر ۱۳ و ۱۴: بخشی از برش کیسه گرده که در آن سلول‌ها در حال گذراندن دومین مرحله تقسیم میوز می باشند. برخی سلول‌ها هنوز در مرحله تروفاز I (↑) و برخی در تروفاز II (↘) هستند که در نهایت دیاد و تتراد را تشکیل می‌دهند.



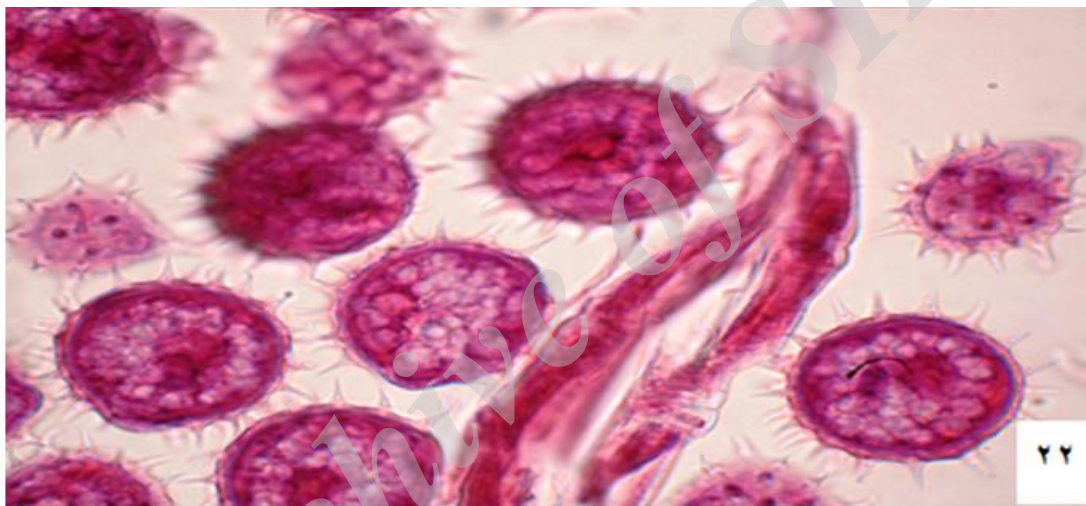
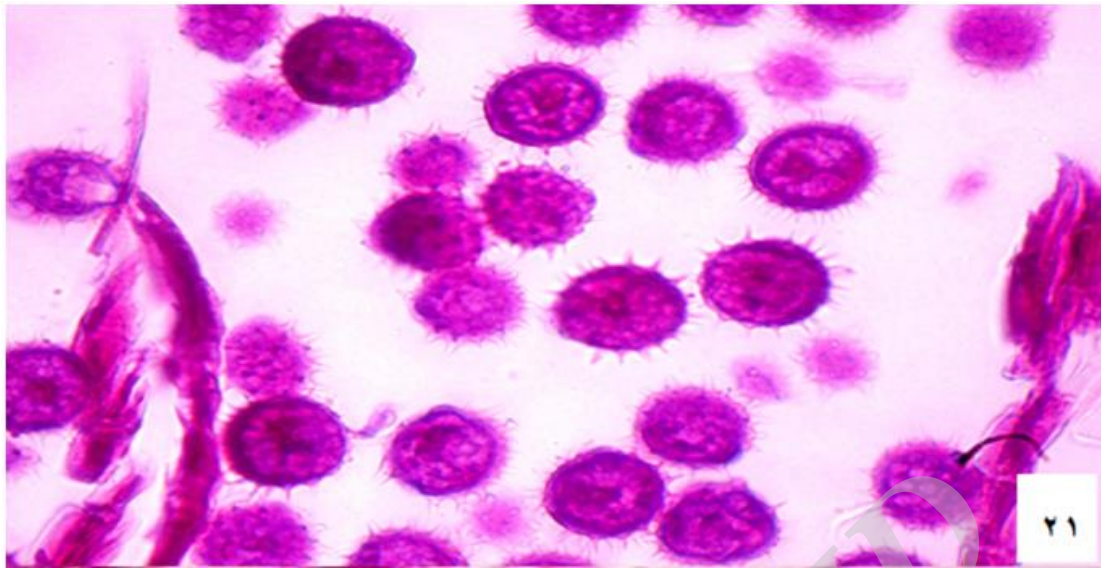
تصاویر ۱۵ و ۱۶: تترادها با فراوانی بیشتر از نوع تتراهدرا (♂)، ابتدا به صورت به هم چسبیده با دیواره کالوزی که به تدریج مجزا می شوند.
En: لایه مکانیکی (اندوتسیوم)؛ Ta: تایی



تصویر ۱۷: برش طولی از دو کیسه گرده در یک بساک که از نظر مراحل نموی متفاوتند، یکی در مراحل قبل از آغاز تقسیم و دیگری در مرحله تشکیل میکروسپور است. تصویر ۱۸: میکروسپورها (↗) تشکیل شده در حال تغذیه از سلول‌های تاپی و کامل شدن، دیواره انتین و اگزین. یک سلول لایه تاپی با هسته بسیار درشت و رنگ پذیری بالا در حال تغذیه میکروسپورها و لایه اندوتسیوم دیواره بساک در تصویر مشخص هستند.
En: لایه مکانیکی (اندوتسیوم)؛ Ta: تاپی



تصاویر ۱۹ و ۲۰: سلول‌های تاپی درشت دو هسته‌ای یا دارای هسته چند قسمتی در اطراف میکروسپوره‌های در حال نمو (↗) به عنوان منبع مغذی مشاهده می‌شوند. En: لایه مکانیکی (اندوتسیوم)؛ Ta: تاپی



تصاویر ۲۱ و ۲۲: دانه‌های گرده رسیده با تزئینات سطحی خاردار آگزین

یکی دیگر از لایه‌های بساک، لایه مکانیکی است که از نظر شکل ظاهری سلول‌های آن با داشتن فیبرهای تزئینی که ظاهر U شکل به این سلول‌ها می‌دهند، مشخص می‌باشند [۱،۲،۶]. میوز در میکروسپوروسیت‌ها به تشکیل تترادها می‌انجامد، تترادها در گل مینا از هر دو تیپ تترگونال و تتراهدال هستند، از این نظر برخلاف برخی گیاهان این تیره که تاپی را از یک نوع گزارش کرده‌اند [۱،۲،۶]. مسیله قابل توجه بعدی تقسیم سیتوکینز

مسئله جالب در مورد سلول‌های لایه تاپی در گل مینا، رنگ‌پذیری بالای این سلول‌ها بویژه هسته‌های درشت آنهاست که به دلیل درجه بالای پلویدی و فعالیت متابولیسمی بالای این سلول‌ها می‌باشد [۱۶]. در نمونه مورد مطالعه ما بساک چهار لایه‌ای است و لایه میانی نمو پیدا می‌کند، البته بسیار سریع و در مرحله پروفاز میوز تحلیل می‌رود، این نتایج با گزارش‌های قبلی همسو می‌باشد [۱-۲-۸].

[۳] سعیدی، ح.، (۱۳۹۱). سیستماتیک گیاهی دیدگاه تبارشناختی. ویرایش سوم. جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان

[۴] قهرمان، ا. (۱۳۹۱). گیاهشناسی پایه، جلد ۲، چاپ پانزدهم، انتشارات دانشگاه تهران

[۵] مظفریان، و. (۱۳۹۰). رده بندی گیاهی (دولپه‌ای‌ها)، جلد ۲، چاپ پنجم، انتشارات امیرکبیر تهران.

[6] Chehregani, A., Mohsenzadeh, F. and Ghanad, M. (2011) Male and female gametophyte development in *Cichorium intybus*. International Journal of Agriculture and Biology 13: 603-60.

[7] Cronquist, A. (1977) The Compositae revisited. Brittonia 29:137-153.

[8] Davis, G. L. (1964) Embryological studies in the compositae: Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Brachycome ciliaris* (Labill.) less. Australian Journal of Botany 12: 142-151.

[9] Deng, Y., Chen, S. and Teng, N. (2010) Flower morphologic anatomy and embryological characteristics in *chrysanthemum multicaule*. Scientia Horticulturae 124(4): 500-505.

[10] Dickinson H. G. (2000). Pollen coating-chimaeric genetic and new function. Sex Plant Reprod. 12: 302-309.

[11] Funk, V. A., Chan, R., and Holland, A. (2007) *Cymbonotus* (Compositae; Arctoideae, Arctotidinae): an endemic Australian genus embedded in a southern Africa clade. Botanical Journal of the Linnean Society 153: 1-8.

[12] Harris, E. M. (1994). Developmental evidence for syncephalia in Lagascea (Heliantheae; Asteraceae). American Journal of Botany 81: 1139-1148.

[13] Harris, E. M. (1999b) Capitula in the Asteridae: a widespread and varied phenomenon. Botanical Review 65: 348-369.

[14] Kuklina, E. A. (2003) Flower development of greenhouse chrysanthemum. Acta Biologica Cracoviensis Series Botanica 45 (1): 173-176.

صورت گرفته در تترادهایی است که از تقسیم میوز در میکروسپوروسیت‌ها حاصل شده‌اند، این سیتوکینز از نوع همزمان می‌باشد. تکوین میکروسپورها در کیسه‌های گرده مجاور یکدیگر همزمان است البته در مواردی هم در دو کیسه گرده مجاور مراحل مختلف نمودی مشاهده گردید. زمانیکه این میکروسپورهای جوان از حالت تترادی خارج می‌شوند همچنان لایه کالوزی آنها را دربرگرفته و هسته درشت و سیتوپلاسم متراکم آنها جالب توجه می‌باشد. پس از گذراندن مراحل نمودی این میکروسپورها با پوشش آگزمین و انتین حاصل از لایه مغذی پوشیده شده بالغ می‌گردند و به دانه گرده تبدیل می‌شوند. هر میکروسپور متحمل یک تقسیم میتوز شده و در آن دو هسته نابرابر تشکیل می‌گردد. هسته بزرگتر که هسته رویشی است. هسته کوچکتر که هسته زایشی می‌باشد. یافته‌های ما از نظر تعداد هسته‌ها در دانه گرده با نتایج پژوهش‌هایی که در این تیره دانه گرده سه یاخته‌ای را گزارش کردند متفاوت است [۲۲]. آراستار سطحی دانه گرده شامل آگزمین خارردار است که از مشخصات بارز اغلب گیاهان این تیره می‌باشد [۱،۲،۶،۹،۲۲].

منابع

[۱] چهرگانی، ع.، حاجی صادقی، س.، محسن‌زاده، ف. (۱۳۸۹). مطالعه مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Inula aucheriana* زیست‌شناسی گیاهی ۲، ۶، ۱۵-۲۸.

[۲] رضائزاد، ف.، مجد، ا. (۱۳۹۱). تکوین گل آذین، گل و گرده در گل جعفری (*Tajetes patula*): ویژگی‌های ساختاری گل در ارتباط با گرده افشانی، زیست‌شناسی گیاهی، ۱۲، ۵۱-۶۶.

- [15] Lakshmi, S. P. and Pullaiah, T. (1979) Embryology of *Senecio tenuifolius* Burm. f. (Asteraceae). *Taiwania* 32: 208-213.
- [16] Maheshwari, P. (1950). An introduction to the embryology of angiosperms. McGraw-Hill, New York.
- [17] Pacini, E. and Keijzer, C. J. (1989). Ontogeny of intruding non plasmodial tapetum in the wild chicory (*Cichorium intybus*). *Plant Systematics and Evolution*. 167: 149-169.
- [18] Pacini, E. (1990). Tapetum and microspore function. In *Microspores: ontogeny and development*, Edited by Blackmor, S., Knox, R. B., Academic Press, London, pp 213-237.
- [19] Pacini, E. and Franchi, G. (1993). Role of tapetum in pollen and spore dispersal. *Plant Systematics and Evolution*. Suppl. 7:1-11.
- [20] Pacini, E. (1997). Tapetum character states: analytical keys for tapetum types and activities, *Can J Bot.*, 75: 1448 – 1459.
- [21] Polowick, P. L. and Sawhney, V. K. (1993). Differentiation of the tapetum during microsporogenesis in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) with special reference to the tapetal cell wall. *Annals of Botany*. 72: 595-605.
- [22] Sood, S. K. and Neelam, K. (2000) Investigations on embryology of *Inula cuspidate* Clarke (Asteraceae). *Journal of Indian Botanical Society* 79: 93-95.
- [23] Suzuki, K. and Tajeda, H. (2001). Ultrastructural study on degeneration of tapetum in anther of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under heat stress. *Sexual Plant Reproduction* 13: 293-299.
- [24] Xue, C. Y. and Li, D. Z. (2005) Embryology of *Megacodon stylophorus* and *Veratilla baillonii*: *Botanical journal of the Linnean Society* 147: 317-331.

Archive of SID