میکروسپورزایی و مگاسپورزایی در گیاه شکرتیغال (*Echinops ilicifolius* L.)

زهرا بقایی‌فر[۱*]، محمود مفیدی‌نیا[۱] و عبدالکریم چهرگانی‌راد[۲]

[۱] تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

[۲] همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۲۱

چکیده

با وجود افزایش روزافزون مطالعات کاربردی و مولکولی در تیره آفتابگردان (Asteraceae)، مطالعه زیست‌شناسی تولید مثلی، که مراحل و چگونگی تکوین گل‌ها را شامل می‌گردد، در این تیره ضروریست. در این پژوهش ویژگی‌های رویان‌شناختی، شامل تکوین دانه گرده و تخمک در گیاه شکرتیغال*Echinops ilicifolius* از تیره آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفتند. گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در FAA تثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین، با میکروتوم برش‌گیری گردیدند. رنگ‌آمیزی با ائوزین و هماتوکسیلین انجام شد. لام‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. نتایج نشان داد که بساک‌ها تتراسپورانژی بوده و لایه مغذی از نوع پری پلاسمودیومی کاذب است. تترادهای میکروسپوری از نوع تتراهدرال و تتراگونال می‌باشند. در بافت رابط بساک ذرات کریستالی سوزنی شکل وجود دارد. دانه‌های گرده در زمان انتشار دویاخته‌ای هستند. تخمک از نوع واژگون، تک‌پوسته‌ای و کم‌خورش است. لایه آندوتلیوم از یک ردیف یاخته تشکیل شده و با کیسه جنینی در ارتباط است. نمو کیسه رویانی بر اساس تیپ پلی‌گونوم انجام می‌شود. یاخته-های آنتی‌پود ممکن است به ۶ تا ۸ عدد افزایش پیدا کنند.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، تخمک، مگاسپورزایی، میکروسپورزایی، *Echinops ilicifolius*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۳۲۵۴۶۷۲۱ ، پست الکترونیکی: z_baghaeifar@pnu.ac.ir

مقدمه

گیاه شکرتیغال با نام علمی *Echinops ilicifolius* متعلق به طایفه *Echinopeae* و از تیره آفتابگردان در جهان نزدیک به ۳۵۰ گونه دارد. در محدوده جغرافیایی فلور ایرانیکا یعنی فلات ایران، ۷۴ گونه از آن ذکر شده که ۵۴ گونه آن متعلق به ایران است. اعضای این جنس گیاهانی علفی، چند ساله و بندرت یکساله هستند. بر اساس پژوهش های انجام شده در سال های بعدی تعداد گونه های آن در فلات ایران به حدود ۷۰ مورد افزایش یافته است(۷). تیره Asteraceae بزرگترین تیره گیاهی است (۵). بر اساس گزارش های باغ گیاه شناسی سلطنتی کیو این تیره بیش از ۱۶۰۰ سرده و ۲۳۰۰۰ گونه دارد که سرده ها و گونه های فراوان آن، پراکنش جهانی دارند. اعضای این تیره از گذشته های دور به دلایل مختلفی از جمله استفاده های دارویی، اقتصادی و بازرگانی مورد توجه بوده و موضوع مطالعات بسیاری قرار گرفته است (۴۰). در این تیره به دلایل مختلفی، از جمله شباهت های مورفولوژیکی، تقسیم بندی سرده ها و تشخیص مرز بین آنها اغلب مشکل‌زا بوده و برخی از آنها باید به زیر گروه‌های کوچک‌تر تقسیم شوند (۲۲). از این رو نیاز به بررسی و ایجاد روش های جدید در شاخه ها و گرایش هایی از علم زیست شناسی است تا بتوان این مشکل را حل کرده و رده بندی های مناسب و دقیقی از اعضای این تیره بزرگ گیاهی و سایر تیره های گیاهی ارائه کرد (۳۷). رویان شناسی شاخه ای از علوم زیستی پایه ای است که در علومی از قبیل

Archive of SID

www.SID.ir

تاکسونومی و مورفولوژی کاربرد دارد. شواهد رویان شناختی بطور فزاینده‌ای برای مطالعات تئوری و عملکردی درباره تولید مثل جنسی گیاه ضروری هستند. زیست شناسی تولید مثلی، مطالعه مراحل مختلف وابسته به هم تکوین یعنی اندام زایی گل، شکوفایی بساک، گرده افشانی ، لقاح، رویان زایی، بلوغ دانه، پراکندگی، رویش دانه و تکثیر به وسیله دانه را شامل می‌شود. همه اینها در مفهوم وسیع در ارتباط با رویان زایی هستند. توسعه این علم به‌ویژه برای معرفی و احیای گیاهان نادر و در حال انقراض و نیز گیاهانی که از نظر کشاورزی مهم هستند، ضروریست (۴). بسیاری از گیاهان این تیره از جمله *Echinops ilicifolius* از نظر دارویی و داشتن اسانس، ارزش ویژه‌ای دارند (۹، ۱۰ و ۱۹). بررسی متون مختلف در مورد اثرات درمانی این گیاه دارویی مؤید آن است که شکرتیغال برای درمان و یا تخفیف بیماری های ریوی بعنوان خلط آور، لینت‌بخش سینه، برطرف‌کننده سرفه، رفع خشکی گلو، درمان تنگی نفس و آسم استفاده می شود. درمان های دیگری از قبیل درمان افسردگی، یبوست، چاقی، تب بری، متعادل کننده دستگاه گوارش، تسکین سوزش سردل نیز برای این گیاه ذکر شده است. شکرتیغال برای معده و دردهای احشایی مؤثر است. خاصیت نوتروپیک داشته و اثر مثبتی بر حافظه و قدرت یادگیری دارد. بدلیل اثرات آنتی اکسیدانی و وجود تری هالوز، شکر تیغال می تواند به عنوان داروی ضد سرطان، آلزایمر و هانتینگتون کاربرد داشته باشد(۶، ۹ و۳۶). مطالعات متعدد سیتوشیمیایی، مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی در این جنس انجام شده است (۳۸ و ۴۰)، اما با وجوداین 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 ضروریست (۳۵). بر اساس مطالعات رویان شناختی محدود انجام شده نیز، استثناهای متعددی در گیاهان این تیره گزارش شده است، از قبیل: قرار گیری یاخته‌های مادر گرده در یک ردیف در بخش میانی بساک (۲۲)، وجود پدیده Nemec یعنی تشکیل ساختارهای شبیه کیسه رویانی در دانه گرده (۱۴ و ۱۶)، افزایش سینرژیدها (۸ و ۱۵)، افزایش یاخته‌های آنتی پود (۲۹ و ۳۴)، کیسه رویانی ۴ یاخته‌ای (۲۱) و آپومیکسی (۱۲ و ۱۷) گزارش شده است. بر اساس مطالعات مرجع شناختی بعمل آمده، این پژوهش اولین بررسی در مورد رویان شناسی گونه *E.ilicifolius*، به عنوان نماینده ای از جنس *Echinops* است.

مواد و روشها

گل ها و غنچه های گیاه *E.ilicifolius* در مراحل مختلف نمو، بمنظور بررسی مراحل تکوینی دانه گرده و تخمک از سطح شهرستان کمیجان در استان مرکزی برداشت و بعد در فیکساتور FAA تثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. پس از تثبیت و شستشوی نمونه ها، آبگیری از نمونه ها توسط درجات افزایشی الکل (۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰) انجام شد. شفاف سازی نمونه ها با درجات مختلف مخلوط الکل و تولوئن (۱/۴، ۲/۴، ۳/۴ و ۴/۴) انجام شد. سپس نمونه ها پارافین دهی و قالب گیری شده و با روتاری میکروتوم مدل DS 4055 و ضخامت ۷-۵ میکرومتر برش گیری گردیدند. رنگ آمیزی با ائوزین (رنگ آمیزی سیتوپلاسم) و هماتوکسیلین (رنگ آمیزی هسته) طبق روش Yeung(۱۹۸۴) انجام شد (۴۳). هر یک از مراحل تکوین تخمک و پرچم در چندین برش به وسیله میکروسکوپ LABOMED LX500 دوربین دار بررسی شد. برای هر مرحله حداقل سی گل برش گیری شده و از بهترین آنها با دوربین نصب شده بر روی میکروسکوپ عکس برداری گردید.

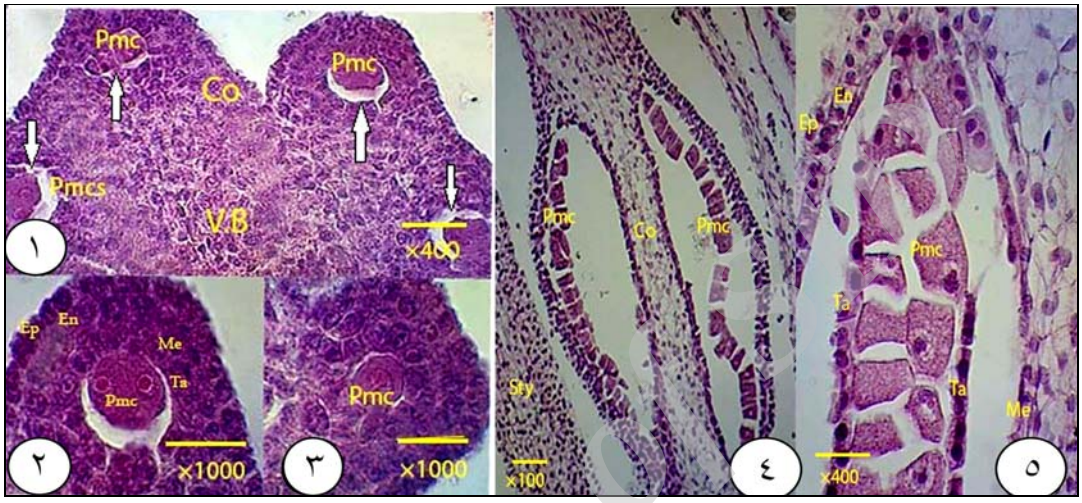
نتایج

تشکیل دیواره بساک: بساک در گیاه *E.ilicifolius* از نوع چهار کیسه گرده‌ای یا تتراسپورانژی است (تصویر ۱). یاخته های آرکئوسپوری در زیر اپیدرم تمایز پیدا می کنند.

Archive of SID

www.SID.ir

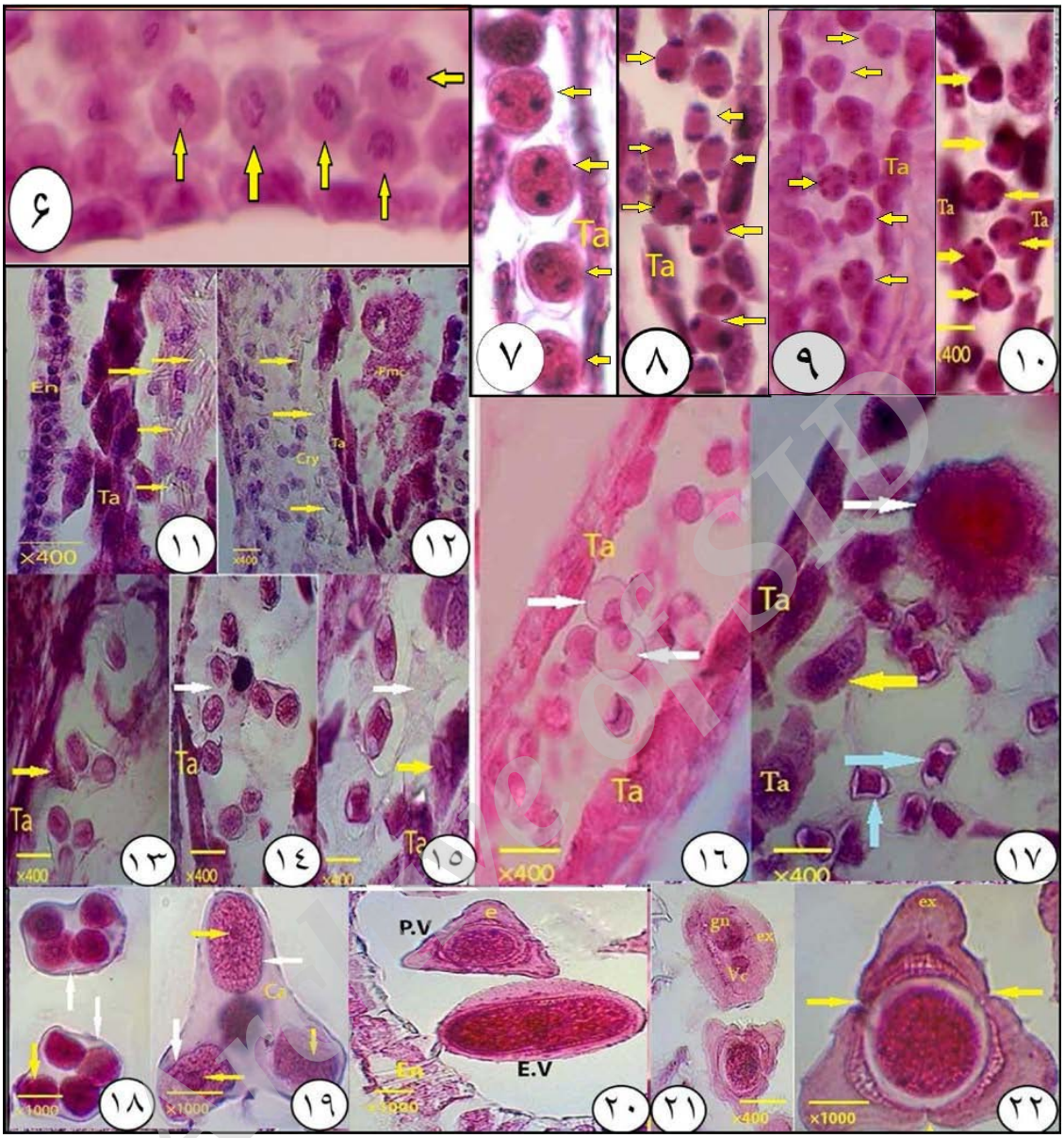
این یاخته ها که دارای سیتوپلاسم متراکم و هسته بزرگ و مشخصی هستند، با تقسیمات مماسی خود دو گروه یاخته را ایجاد می کنند. یاخته جداری که به سمت بیرون قرار می گیرد و یاخته هاگزا که طی تقسیم مماسی به سمت داخل قرار می گیرد. یاخته جداری با تقسیمات خود دیواره بساک چهار لایه‌ای را ایجاد می کند که از بیرون به داخل شامل لایه اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه تاپی یا تغذیه ای است (تصویر ۲). لایه مغذی از یاخته هایی با یک هسته تشکیل شده است که البته ممکن است در بعضی از مراحل به صورت دو هسته ای نیز دیده شوند. رشد این یاخته‌ها به سمت حفره بساک است و از نظر شکل کم و بیش کروی بوده یا حالت کشیده دارند (تصویر۵).



تصویرهای ۲۲-۱- میکروسپورزایی، تشکیل گامتوفیت نر و نمو دیواره بساک در *Echinops ilicifolius*. (۱) برش عرضی بساک، که چهار کیسه گرده را نشان می‌دهد (بساک تتراسپورانژی). (۲) لایه‌های تشکیل‌دهنده دیواره بساک را نشان می‌دهد که شامل: لایه اپیدرم (Ep)، لایه مکانیکی (En)، لایه میانی (Me) و لایه تاپی است. (۳) کیسه بساک دارای یک میکروسپور. (۴ و ۵) برش طولی از بساک که نشان‌دهنده دیواره بساک به‌ویژه لایه مغذی (Ta) و یاخت های مادر گرده (pmc) است که در یک یا دو ردیف مستقر هستند. (۵) برش طولی از بساک که از لایه مغذی عبور کرده و تقسیمات میتوزی در یاخته‌های مغذی را نشان می‌دهد که منجر به دو هسته‌ای شدن و یا پلی‌پلوئیدی در یاخته‌های لایه مغذی می‌گردد. این تصویر پروفاز I میوزی را نشان می‌دهد. pmc : یاخته‌های مادر گرده، Ta : لایه تاپی، Ep : لایه اپیدرم، En : لایه مکانیکی، Me : لایه میانی، Co : بافت رابط.

یاخته های لایه مغذی درجه بالایی از پلی پلوئیدی را از خود نشان می دهند که نتیجه تقسیمات پی‌درپی میتوزی است. در تشکیل دیواره بساک و نمو دانه گرده در مراحلی می‌توان لایه مغذی از نوع ترشحی را مشاهده کرد که در طی این مراحل یاخته های لایه مغذی تحلیل نرفته و در جای خود ثابت هستند (تصویرهای ۵، ۱۱ و ۱۲). اما وقتی که میکروسپورها در حال نمو به دانه گرده بالغ (دو سلولی) هستند، ضمائمی از یاخته‌های لایه مغذی به سمت حفره بساک تشکیل می شود. در مرحله ای که دانه‌های گرده تک یاخته‌ای یا دو یاخته ای هستند، یاخته‌های لایه مغذی تقریباً تحلیل می روند اما هنوز باقیمانده آنها قابل مشاهده است (تصویرهای ۱۵، ۱۶و۱۷). ضمائم حاصل از یاخته‌های لایه مغذی در مرحله دانه‌های گرده تک یاخته‌ای کم و بیش قابل مشاهده است (تصویرهای ۱۳و۱۵). لایه میانی در دیواره بساک مشخص می باشد (تصویرهای ۲و ۵). در مرحله دانه‌های گرده دویاخته‌ای، لایه مکانیکی هنوز ضخیم شدگی های فیبری را تشکیل نداده و یاخته ها هنوز زنده‌اند. اما در مرحله پایانی نمو دانه‌های گرده دو یاخته-ای، لایه مکانیکی ضخیم و فیبری می شود (تصویر۲۰).

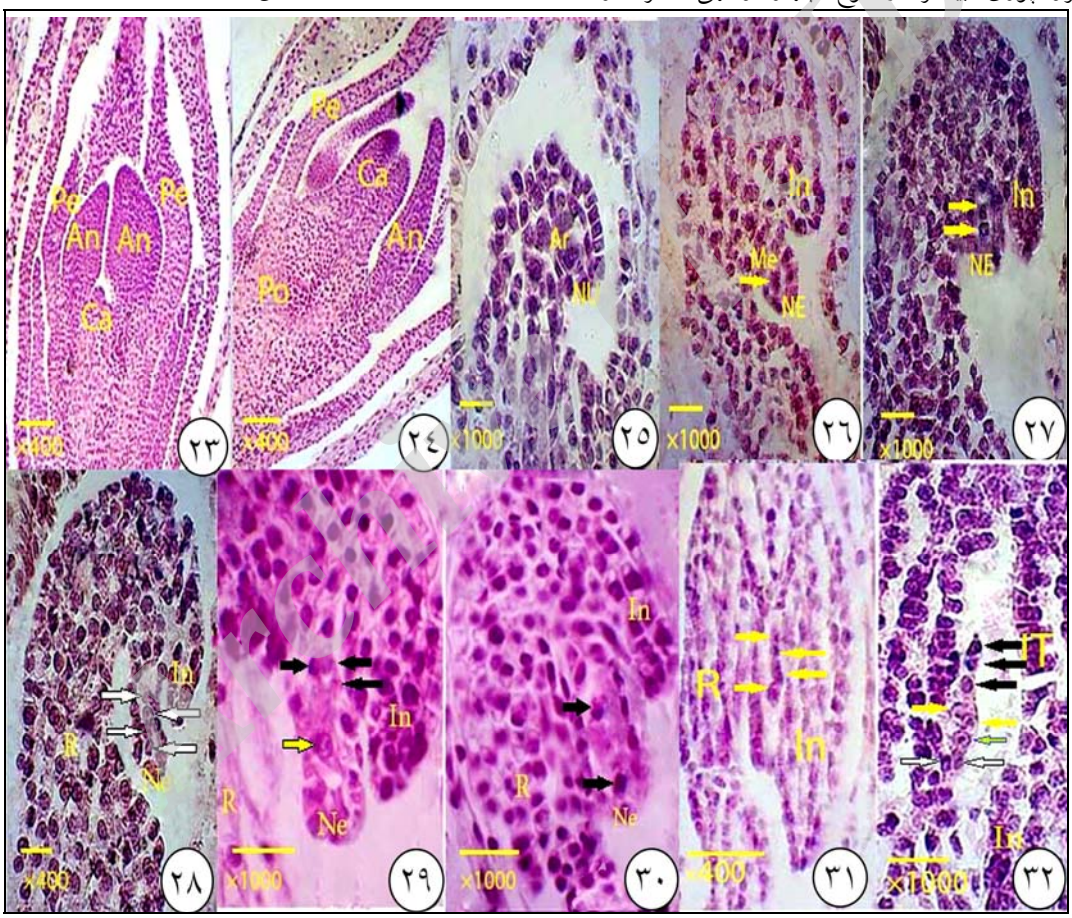
Archive of SID
www.SID.ir



ادامه تصویرهای ۲۲-۱- میکروسپورزایی، تشکیل گامتوفیت نر و نمو دیواره بساک در *Echinops ilicifolius*. (۶) برش طولی از بساک که نشان‌دهنده آغاز تقسیم میوز در یاخته‌های مادر گرده است (متافاز I). (۷) آنافاز I. (۸) تلوفاز I. (۹) تلوفاز II. (۱۰) برش طولی بساک در مرحله تشکیل تتراد میکروسپوری که هنوز بین تترادها دیواره تشکیل نشده است. (۱۱) کریتال‌های سوزنی شکل در حفره بساک. (۱۲) کریستالهای سوزنی در بافت رابط بین بساک‌ها. (۱۳،۱۴و۱۵) تترادهای میکروسپوری آزاد شده‌اند، لایه کالوزی در اطراف میکروسپورها مشخص است (↑سفید رنگ). ضمائمی از طرف لایه تاپی به سمت حفره بساک کشیده می‌شود (↑ زرد رنگ)، با از بین رفتن سلولهای لایه تاپی سیتوپلاسم آنها با هم ادغام می‌شود، در نتیجه لایه مغذی از نوع پری پلاسمودیومی کاذب است. میکروسپورها هنوز واکوئله نشده‌اند. (۱۶) با واکوئله شدن میکروسپورها هسته موجود در مرکز میکروسپور به کناری رانده می‌شود (↑). (۱۷) میکروسپورها در زمان آزاد شدن هنوز واکوئله نبوده و دارای سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته مشخص و قرار گرفته در مرکز یاخته هستند (↑آبی رنگ). میکروسپورها در حال واکوئله شدن هستند. (۱۸) تتراد میکروسپوری از نوع تتراگونال. (۱۹) تتراد میکروسپوری از نوع تترا هدرال. (۲۰) نمای قطبی و استوایی از گرده. لایه مکانیکی(En) ضخیم و فیبری شده است و لایه تاپی از بین رفته است. (۲۱) نمای قطبی و استوایی از برش میکروسپورهای بالغ که در نمای استوایی سلول‌های زایشی و رویشی مشخص است. (۲۲) در نمای قطبی از برش بساک لایه اگزین، سه شیار و لوب در میکروسپور بالغ مشخص است. ep : اپیدرم؛ en : لایه مکانیکی؛ pmc : یاخته مادر گرده؛ sta : پرچم؛ ta: لایه مغذی، Co: بافت رابط، Ca: لایه کالوزی، نمای قطبی (P.V) و نمای استوایی (E.V).

www.SID.ir

میکروسپورزایی و نمو گامتوفیت نر: میکروسپوروسیت ها از تمایز یاخته های هاگزا به وجود می آیند (تصویرهای۲ و ۳). با شروع مراحل مختلف میوز که شامل پروفاز I (تصویر۵)، متافاز I (تصویر۶)، آنافاز I (تصویر۷)، تلوفاز I (تصویر۸) و تلوفاز II (تصویر۹) است در هر میکروسپور، تترادهای میکروسپوری تشکیل می‌شود. در طی میوز I سیتوکینز رخ نمی دهد، در نتیجه بین هسته‌ها در مرحله تلوفاز I دیواره وجود ندارد (تصویر ۸). سیتوکینز از نوع همزمان است و پس از میوز II رخ می‌دهد. تترادهای میکروسپوری بیشتر از نوع چهار وجهی (تتراهدرال) (تصویر ۱۹) و بندرت از نوع چهار گوش (تتراگونال) (تصویر ۱۸) هستند. دیواره کالوزی در اطراف تترادها و لابه‌لای مونادها بخوبی قابل تشخیص است (تصویر های ۵ و ۷). زمانی که میکروسپورها وارد حفره بساک می شوند هنوز واکوئله نبوده و دارای سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته مشخص و قرار گرفته در مرکز یاخته هستند (تصویر ۱۷). بعد از آزاد شدن میکروسپورها بتدریج تزئینات اگزین در آنها تشکیل می‌شود (تصویر۱۴). هسته که در موقعیت مرکزی قرار دارد با توسعه واکوئل مرکزی، به موقعیت کناری رانده می شود (تصویر ۱۶).



تصویرهای ۳۲-۲۳- مگاسپورزایی و تکوین مگاگامتوفیت در *Echinops ilicifolius* (۲۳) برش طولی از غنچه، که در آن تشکیل پریموردیوم پرچم (An) زودتر از پریموردیوم مادگی (Ca) انجام شده است. Pe : گلبرگ‌ها. (۲۴) برش طولی از غنچه، که نشان می‌دهد پریموردیوم تخمکی (Po) زمانی تشکیل می‌شود که میکروسپورها در بساک تشکیل شده‌اند. (۲۵) برش طولی تخمک با سلول آرکئوسپوری (Ar)، NE : خورش؛ (۲۶) برش طولی تخمک با سلول مگاسپوری (Me). In : پوسته تخمک؛ (۲۷) برش طولی تخمک در مرحله دیاد میوز I (↑). (۲۸) برش طولی تخمک در مرحله تتراد میوز I (↑). R : رافه؛ (۲۹) برش طولی تخمک که مگاسپور عملکردی در قطب بنی را نشان می‌دهد (↑)؛ (۳۰) برش طولی تخمک

www.SID.ir

نشان‌دهنده کیسه رویانی دو هسته‌ای (↑)؛ (۳۱) برش طولی تخمک در مرحله کیسه رویانی چهار هسته‌ای (↑)؛ (۳۲) برش طولی از کیسه رویانی هشت هسته‌ای.

با تقسیمات میتوزی نابرابری که هسته انجام می دهد دو هسته نابرابر بوجود می‌آید. دانه گرده دو هسته ای (هسته بزرگ، رویشی و هسته کوچک، زایشی) در نهایت دو یاخته‌ای می‌شود (تصویر ۲۱).

مگاسپورزایی و نمو گامتوفیت ماده: گیاه *E.ilicifolius* دارای یک تخمک است که درون تخمدانی دو برچه ای ، تک خانه‌ای و زیرین قرار دارد. تخمک واژگون و تک پوسته‌ای بوده و تشکیل پوسته تخمک با تقسیمات مماسی و عمود بر سطح در قاعده خورش آغاز می‌شود. یاخته مادر مگاسپور از رشد و تمایز یکی از یاخته های بافت خورش در مراحل اولیه نمو تخمک به وجود می آید، بنابراین تخمک از نوع کم خورش است (تصویرهای ۲۵ و ۲۶). با انجام تقسیمات میوزی I و میوزی II یاخته مادر مگاسپور ابتدا تولید دیاد و سرانجام تولید تتراد خطی مگاسپور را می‌کند که مگاسپور بنی، مگاسپور عملکردی است (تصویرهای۲۷ و ۲۸). مگاسپور عملکردی دارای یک هسته است، بهمین دلیل کیسه رویانی یک هسته‌ای نامیده می شود (تصویر ۲۹). با تقسیمات میتوزی که یاخته مگاسپور عملکردی انجام می دهد، ابتدا کیسه رویانی دو هسته ای (تصویر ۳۰)، در ادامه چهار هسته‌ای (تصویر ۳۱) و در نهایت کیسه رویانی هشت هسته‌ای (تصویرهای ۳۲ و ۳۳) را به وجود می‌آورد. در ادامه کیسه رویانی یاخته ای می شود که نتیجه آن تشکیل کیسه رویانی بالغ است (تصویر ۳۴ و ۳۵). زمانی که کیسه رویانی بالغ شکل می‌گیرد مهاجرت هسته‌های قطبی نیز انجام می شود، مانند بیشتر نهاندانگان تیپ کیسه رویانی حاصل از نوع پلی-گونوم است (تصویرهای ۳۳ و ۳۴). قبل از لقاح، با مهاجرت هسته های قطبی به سمت سفت و تلفیق آنها، یک هسته ثانویه با واکوئل بزرگ به وجود می‌آید که در بخش میانی کیسه رویانی قابل مشاهده است. مهاجرت هسته ثانویه به سمت دستگاه تخم است (تصویر ۳۴). از نظر شکل یاخته تخم‌زا شکل کروی داشته و با هسته درشتی که در بخش بنی خود دارد از یاخته های سینرژید قابل تشخیص است. دو یاخته قرینه هم به دلیل قطبیت و همچنین تشکیل ساختارهای رشته‌ای توسعه یافته به سمت سفت قابل تشخیص هستند (تصویر ۳۳). تعداد یاخته‌های آنتی پود ممکن است افزایش (۶ تا ۸ عدد) پیدا کنند (تصویر ۳۹). نحوه قرار گیری یاخته های آنتی پود در کیسه رویانی بصورت خطی است و محل قرار گیری آنها در قطب بنی کیسه رویانی است. بافت آلبومن از تقسیمات سلول دوهسته ای حاصل می شود که تقسیمات این سلول قبل از لقاح شروع می شود.

بحث و نتیجه‌گیری

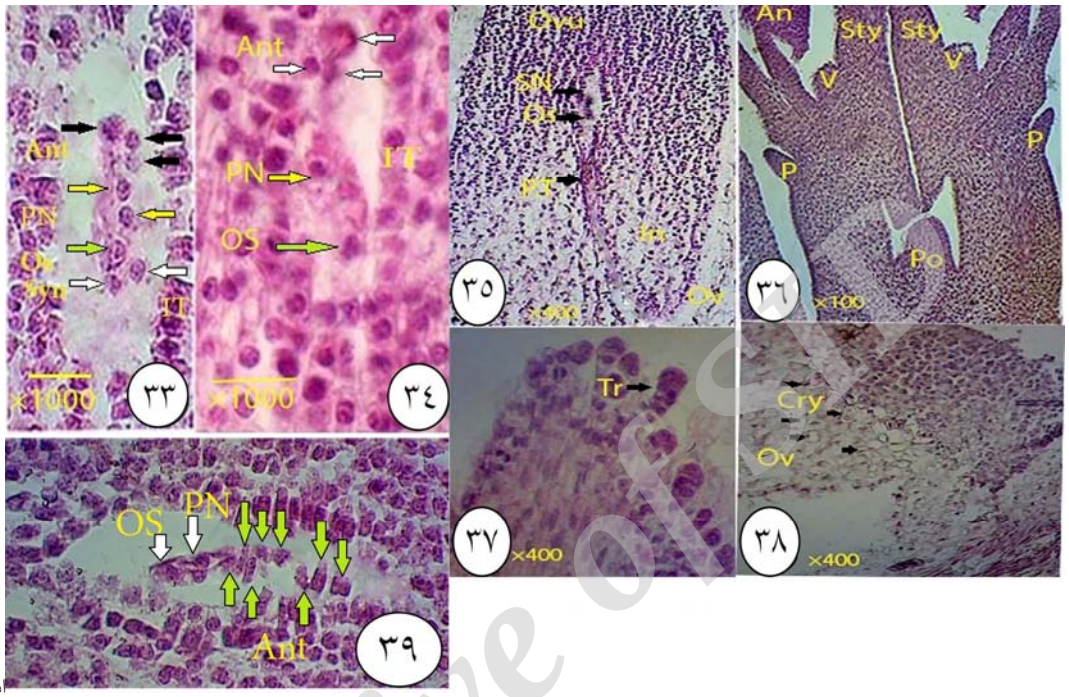
بساک و گامتوفیت نر: یاخته‌های آرکئوسپوری دارای سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم هستند که این ویژگی ها تشخیص این یاخته ها را آسان می کند. با تقسیمات مماسی که این یاخته ها انجام می دهند دو گروه یاخته حاصل می شود. یاخته جداری بیرونی و یاخته هاگزای درونی (۴۲). در گیاه *E.ilicifolius* نمو دیواره بساک بر اساس تیپ دو لپه ای است (۱۵). لایه مکانیکی دارای ضخیم شدگی های فیبری است (۴۳). نمو لایه میانی در گونه مورد مطالعه مشاهده می شود. یک همبستگی آشکار بین تقسیمات میوزی در یاخته‌های مادر گرده و نمو لایه تاپی بساک وجود دارد که برای سایر گونه های این تیره نیز گزارش شده است (۱۹). یاخته های لایه مغذی فعالیت متابولیسمی بالایی دارند که نتیجه آن وجود درجه بالایی از پلوئیدی در آنهاست (۲۶).

در نهاندانگان دو تیپ اصلی نمو لایه تاپی بساک قابل تشخیص است (۲۷): ترشحی (جداری) و آمیبی (periplasmodial). در گیاه *E.ilicifolius* لایه تاپی از نوع پری پلاسمودیومی کاذب است که در آن ضمائمی از

Archive of SID

www.SID.ir

سمت لایه تاپی به داخل حفره بساک کشیده می شود. سلول های لایه تاپی ابتدا ترشحی بوده ولی با بلوغ میکروسپورها (گرده دو سلولی) لایه تاپی بتدریج از بین رفته و سیتوپلاسم آنها با هم ادغام می شود. لایه تاپی آمیبی برای گونه‌های متعددی از تیره Asteraceae گزارش شده است (۱) که با این نتایج همسویی دارد.



ادامه

تصویرهای ۳۹-۳۳ – مگاسپورزایی و تکوین مگاگامتوفیت در *Echinops ilicifolius* (۳۳) برش طولی از کیسه رویانی ۸ هسته‌ای که قرینه‌ها (syn)، آنتی‌پودها (ant)، تخمزا (os) و هسته‌های قطبی (PN) مشخص هستند. تخمزا: (os)؛ (۳۴) تلفیق هسته‌های قطبی (PN) در مجاورت دستگاه تخم و تکمیل تمایز و یاخته‌ای شدن در کیسه رویانی. تخمزا (os) به خوبی مشهود است. (۳۵) این تصویر نشان می‌دهد که میکروپیل انحنای مستقیم، با شکل صاف دارد. (۳۶) برش طولی از گل که در آن کاکل فلسی شکل (P)، تشکیل نوشجای (V) و خامه دوشاخه‌ای (Sty) مشخص است. (۳۷ و ۳۸) نشان‌دهنده حضور کرک‌ها (Tr) و کریستال‌ها (Cry) در تخمدان است. (۳۹) افزایش یاخته‌های آنتی‌پود مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که تعداد آنها به شش تا هشت عدد می‌رسد (↑ سبزرنگ). تخمزا: (os)، PN: هسته‌های قطبی، Po: پریموردیوم تخمکی، An: بساک‌ها.

در گیاه *E.ilicifolius*، یاخته های اولیه هاگزا که از تقسیمات یاخته های آرکئوسپوری حاصل شده اند مستقیماً به یاخته‌های مادر گرده تمایز پیدا می کنند؛ که در یک یا دو ردیف در بخش میانی بساک استقرار دارند (تصویرهای ۸ و ۷). البته قرار گرفتن یاخته های مادر گرده در یک ردیف در بخش میانی بساک در همه گلچه ها مشاهده نشد. در بیشتر گلچه ها دو ردیف یاخته مادر گرده در بخش میانی بساک مشاهده شد. تعداد کمی از گونه ها وجود دارند که چنین ویژگی (استقرار یک ردیفه یاخته‌های مادر گرده) را از خود نشان دهند (۲۲ و ۲۵). متأسفانه هنوز اهمیت استقرار یک ردیفه یاخته‌های مادر گرده از نظر تبارزایی گیاهی ناشناخته است (۲۹). تترادها که بیشتر از نوع تتراهدرال و بندرت از نوع تتراگونال هستند، حاصل تقسیمات میوزی در یاخته های میکروسپوروسیت هستند. وجود تترادهای تتراهدرال و صلیبی شکل در گیاهان تیره Asteraceae گزارش شده است (۲، ۳ و ۳۰). تکوین میکروسپورهای دو کیسه گرده که در کنار هم هستند، همزمان انجام می شود. سیتوپلاسم متراکم ، هسته حجیم و

Archive of SID
www.SID.ir

شکل منظم در میکروسپورهایی که در حالت تتراد هستند مشاهده می شود. واکوئله شدن این میکروسپورها بعد از رها شدن از تتراد انجام می‌شود. هسته بزرگ هر میکروسپور با یک تقسیم میتوزی و نابرابری که انجام می دهد دو هسته نابرابر به وجود می آورد. هسته بزرگتر رویشی و هسته کوچکتر زایشی. بنابر این دانه گرده ابتدا دو هسته‌ای و بعد دانه گرده دو یاخته‌ای تشکیل می‌شود. نتایج پژوهش های Lakshmi و Pullaiah (۲۵) نشان داده است که دانه‌های گرده در مرحله بلوغ سه یاخته‌ای بوده که با یافته های این پژوهش متفاوت است.

تخمک و گامتوفیت ماده: در گیاه *E.ilicifolius*، مگاسپور عملکردی قبل احاطه شدن توسط لایه کالوزی، کیسه رویانی مونوسپوری را ایجاد کرده و سه مگاسپور دیگر در قطب شالازی از بین می روند. البته وجود تترادهای خطی در گیاهان این تیره بوسیله پژوهشگران متعددی گزارش شده است (۲۳، ۲۴ و ۳۱). مگاسپور عملکردی در نهایت، کیسه رویانی هشت هسته‌ای را بوجود می آورد که بعد به کیسه رویانی بالغ تمایز می یابد. در کیسه رویانی بالغ با سه تقسیم متوالی میتوزی که انجام شده است، در نهایت سه گروه یاخته قابل تشخیص است. یک گروه در نزدیکی منفذ سفت به سه یاخته تمایز می یابند که شامل یک تخم‌زا و دو یاخته قرینه (سینرژید) است. در این مطالعه هر دو یاخته قرینه در کیسه رویانی بالغ قابل مشاهده است. گروه دوم از دو هسته آزاد و قطبی در بخش میانی کیسه رویانی تشکیل شده که به سمت دستگاه تخم مهاجرت می‌کنند و تلفیق آنها در مجاورت دستگاه تخم و قبل از لقاح صورت گرفته و تشکیل هسته ثانویه را می دهند. در این گیاه تقسیمات سلول دو هسته ای قبل از تخم اصلی آغاز می‌شود و در نهایت بافت آلبومن را تشکیل می دهد. گروه سوم یاخته های آنتی پود را شامل می شود که در کیسه رویانی تیپ پلی‌گونوم در قطب مقابل یاخته تخم قرار دارند و معمولاً سه عدد بوده و از نظر اندازه (۱۰، ۲۶ و ۴۰) و همچنین از نظر تعداد (۲، ۳ و ۳۲) در گونه‌های مطالعه شده این تیره تنوع نشان داده‌اند. بر اساس این نتایج افزایش یاخته‌های آنتی پود از اختصاصات کلیه گل‌های گیاه مورد پژوهش نیست و در تعدادی از گلچه های مورد مطالعه مشاهده گردید. در این نتایج گیاه *E.ilicifolius* یک نوع متفاوت از گلچه‌ها و یک تیپ مختلف از جنین‌شناسی را نشان می دهد. در بعضی از گلچه ها فقط افزایش یاخته-های آنتی پود مشاهده می شود، به طوری که تعداد آنها به شش تا هشت عدد می رسد. 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 مکینه‌هاست (۱۵). در این گلچه‌ها تعداد شش تا هشت یاخته آنتی پود در کیسه رویانی قابل مشاهده است و رویان زایی از نمو تخم اصلی لقاح یافته حاصل می شود. در بقیه کیسه های جنینی آنتی پود افزایش تعداد پیدا نمی کند و تعداد آنها سه عدد است.

منابع

۱- چهرگانی راد، ع؛ حاجی صادقیان، س؛ محسن زاده، ف. ۱۳۸۹. مطالعه مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Inula aucheriana* DC. مجله زیست شناسی ایران، ۶: ۱۵-۲۸.

۲- چهرگانی راد، ع؛ محسن زاده، ف؛ غفوری، س. ۱۳۹۳. بررسی مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در Anthemis odontostephana Boiss.Cv.odontostephana. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۷. ۴:۵۵۶ - ۵۴۴.

۳ - حاجی صادقیان، س؛ چهرگانی، ع؛ زارع، ش. ۱۳۸۸.رویان زایی در Tripleurospermum disciform. DC: تیپ جدید و نادر از رویان زایی. مجله زیست شناسی ایران، جلد ۲۲. ۵: ۵۶۴ - ۵۷۲.

۴- رضا نژاد، ف؛ چهرگانی، ع. ۱۳۸۷. رویان شناسی گیاهان گلدار، واژگان و مفاهیم (ترجمه). انتشارات دانشگاه شهید باهنر کرمان، صفحه ۲۶۸.

Archive of SID
www.SID.ir

۵- فان.ا؛ جعفری، آذرنوش (۱۳۸۹). آناتومی گیاهی ،انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، صفحه ,۶۴۰

۶- قهرمان، احمد (۱۳۸۹)، گیاه شناسی پایه، انتشارات دانشگاه تهران ، صفحه ,۴۹۲

۷- مظفریان ولی الله (۱۳۸۰) . « بررسی تاکزونومیک جنس شکرتیغال درایران». مرکز اطلاعات مدارک علمی ایران، ۳-۲.

8- Batygina T.B. 1987 Embryology of flowering plants: terminology and concepts. USA, Science Publishers.

9- Beerentrup, H. and Robbelen, G. 1987. Calendula and Coriandrum–new potential oil crops for industrial uses. *Fat Sci. Technol*., 6: 227–230.

10- Bremer, K. 1994. Asteraceae, Cladistics and Classification. Timber Press, Portland, Oregon

11 - Cameron, B. G. and Prakash, N. 1994. Variations of the megagametophyte in th Papilionoidea. Advances in legume systematics *Struct. Bot*., 6: 97–115.

12- 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.

13 - Chehregani A. and 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.

14 - Chehregani A. and Mehanfar N. 2008. New chromosome counts in the tribe Anthemideae (Asteraceae) from Iran. *Cytologia*, 73: 189-196.

15 - Cichan M. A. and Palser B. F. 1982. Development of normal and seedless achenes in *Cichorium intybus* (Compositae). American J. of Botany, 69: 885-895.

16 - Davis G. L. 1968. Apomixis and abnormal anther development in *Calotis lappulacea* Benth. (Compositae). *Australian J. Botany*, 16: 1-17.

17 - 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.

18 - Diboll, A. G. 1968. Fine structural development of the megagametophyte of Zea mays following fertilization. *Am. J. Bot*., 55: 787–806.

19 - Earle, F. R., Miklojajczak, K. L. and Wolf, I. A. 1964. Search for new industrial oils: X seed-oils of the Calendulae. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41: 345–347.

20 - Gustafsson L. 1946. Apomixis in higher plants. Part I. The mechanism of apomixis. – *Acta Univ. Lund*, 42: 1–67.

21 - Harling G. 1951. Embryological studies in the Compositae. 2. Anthemideae-Chrysantheminae. *Acta Horti Bergiani*, 16: 1-56

22- Hind, D. J. N., Jeffrey C. & Pope G. V. (eds.) 1995. Advances in Compositae systematics. - Royal Bot. Gardens, Kew, 25: 235-236.

23 - Horner HT, 1977. A comparative light and electron microscopic study of microsporogenesis in male-fertile and cytoplasmic male-sterile sunflower (Helianthus annus). Amer J Bot 64:745-759.

24 - Johri, B. M., Ambegaokear, K. and Srivastava, P. S. 1992. Comparative embryology of Angiosperms. Speringer-Verlag. Berlin. Germany, 31:145-147.

25 - Kapil, R. N. and Bhatnagar, A. K. 1981. Ultrastructure and biology of female gametophyte in flowering plants. *Cytology,* 70: 291–337.

26 - Lakshmi S. P. and Pullaiah T. 1979. Embryology of Senecio tenuifolius Burm. F. (Asteraceae). *Taiwania,* 32: 208-213.

27- Maheshwari, P. 1950. An Introduction to the Embryology of Angiosperms. Mc Graw-Hill, New York,75:273-277.

28 - 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.

29 - Pan, K.Y., Wen, J. and Zhou, S. L. 1997. Embryological study on Mosla chinensis (Lamiaceae). *Acta Bot. Sin*., 39: 111–116.

30 - Pandey B. P., 2001. A textbook of botany, Angiosperms. Taxonomy, Anatomy, embryology (including tissue culture) and economic botany. Mc Grew Hill,61:186-190.

31 - Pullaiah T. 1979. Studies in the Embryology of Compositae. IV. The Tribe Inuleae. *American J. of Botany*, 66: 1119-1127.

32 - Rangaswamy, V. and Pullaiah, T. 1986. Studies in the embryology of *Senecio candicans* Dc.

Archive of SID

www.SID.ir

(Compositae). *J. Indian Botanical Society*, 65: 509-512.

33 - Reiser, L. and Fischer, R. L. 1993. The ovule and the embryo sac. *Plant Cell,* 5: 1291–1301.

34 - Richards A. J. 1997. Plant breeding systems. Chapman and Hall,30:145-148.

35 - Shamrov, I. 1998. Ovule classification in flowering plants- new approach and concepts. *Botanische Jahrbucher fur Systematik*., 120: 377-400.

36 - Takanobu Higashiyama. 2002. Novel functions and applications of trehalose.Amase Institue of Hayashibara biochemical Laboratory,74:1263-1269.

37 - 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.

38 - 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.

39 - Valles, J., Torrell, M., Garcia-Jacas, T., Yilatersana, N. and Susanna, A. 2003. The genus *Artemisia* and its allies: phylogeny of subtribe Artemisineae (Asteraceae) based on nucleotide sequence on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacers (ITS). *Plant Biol*., 5: 274-278.

40 - Watanabe, W. 2002. Index to chromosome numbers in Asteraceae. http://www-asteraceae.cla.kobe-u.ac.jp/index.html.

41 - Xiao, D. X. and Yuan, Z. 2006. Embryogenesis and seed development in *Sinomanglietia glauca* (Magnoliaceae). *J. Plant Res*., 119: 163–166.

42 -Xue, C.Y. and Li, D.Z. 2005. Embryology of Megacodon stylophorus and Veratrilla baillonii (Gentianaceae): descriptions and systematic implications. *Bot. J. Linn. Soc*. 147, 317–331.

43 - 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.

44 - 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.

Microsporogenesis and megasporogenesis in *Echinops ilicifolius* L.

Baghaeifar Z.[1], Mofidinia M.[1] and Chehregani A.K.[2]

[1] Biology Dept., Payam Noor University, Tehran, I.R. of Iran

[2] Biology Dept., Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

Despite of the increasing functional and molecular studies in the sunflower family (Asteraceae), the study of generative biology that consists of flowering developmental stages in necessary. In this research, Embryological characteristics including of ovule and pollen grains development of *Echinops ilicifolius* from Asteraceae family were studied. The flowers and buds in different developmental stages were removed, fixed in FAA70, stored in 70% ethanol, embedded in paraffin and sectioned with a thickness of 5-7 µm by microtome. Staining was carried out with Eosine and Hematoxylin. Then slides were studied using light microscope and were photographed. Results indicated that anthers were Tetra-Sporangiate and tapetum was of the periplasmodial type. Pollen tetrads were tetrahedral and tetragonal. In anther tissue interface particles were crystalline needles. Pollen grains were 2-celled at the time of Diffusion. Ovule was anatropous, unitegmic and tenuinucellate. Endothelium was uniseriate and connected with embryonic sac. Embryo sac development was of the *Polygonum* type Antipodal cells increased up to 6-8.

Key words: Asteraceae **,**Development, *Echinops ilicifolius***,** Ovule, Pollen grain.

Archive of SID

www.SID.ir