

## بررسی ویژگی‌های ساختاری و تکوینی دانه گرده، تخمک، رویان و دانه در گونه

*Ebenus stellata*نیره تنعمی<sup>۱\*</sup>، پریسا جنوبی<sup>۱</sup>، عبدالکریم چهرگانی راد<sup>۲</sup>، احمد مجد<sup>۱</sup> و مسعود رنجبر<sup>۲</sup><sup>۱</sup> تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم گیاهی<sup>۲</sup> همدان، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۱

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۲۰



## چکیده

ویژگی‌های ساختاری و تکوینی اندامهای زایشی و دانه در گیاه *Ebenus stellata* Boiss. (Fabaceae) تنها گونه جنس *Ebenus* L. در ایران می‌باشد، توسط میکروسکوپیهای نوری، فلورسانس و پلاریزان و با استفاده از فنون مختلف رنگ‌آمیزی برای نخستین بار مورد بررسی قرار گرفت. در گیاه مورد مطالعه مادگی تک‌برچه، تک‌تخمکی، فاقد پایک و دارای کرکهای تار ابریشمی انبوه با برجستگیهای انگشت‌مانند است. تخمک خمیده، دوپوششی، پرخورش و دارای لایه آندوتلیوم می‌باشد. حاصل تقسیم مگاسپوروسیت یک تتراد T شکل است. سرانجام تکوین مگاسپور بنی، به تشکیل یک کیسه‌رویانی با الگوی پلی‌گونوم منجر می‌شود. در مجاورت دستگاه تخمزا هسته‌های قطبی مجزا، پس از لقاح تخمزا با تأخیر زمانی قابل توجه به یکدیگر ملحق می‌شوند. در کیسه‌رویانی این گونه بافت‌های تخصصی هیپوستاز، پوستامنت و درپوش فنجانی تشکیل می‌شود. در دانه یک لایه سلول ماکرواسکلرید شعاعی کشیده، لایه نردبانی دولایه، اثر تراکنید با غلافی از سلولهای پارانشیمی که حاوی ترکیبات فنلی می‌باشند، دیده می‌شود. در دستگاه زایشی نر، بساکها چهار کیسه‌گرده‌ای با تکوین دیواره از نوع دولپه‌ای می‌باشند که متشکل از چهار لایه شامل: اپیدرم، لایه مکانیکی، یک لایه میانی و تاپی ترش‌تی تک‌هسته‌ای است. تکوین گرده‌ها در کیسه‌های گرده یک بساک هم‌زمان است و آرایش میکروسپورها در کالوز غالباً از نوع تراهدرال می‌باشد. در زمان شکوفایی بساک ضخامت فیبری لایه مکانیکی افزایش می‌یابد. دانه‌های گرده بالغ بیضی شکل، سه شیار و دو سلولی هستند.

واژه‌های کلیدی: کیسه‌رویانی، هیپوستاز، بساک، دانه، پروانه آسیایان، *Ebenus stellata*\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱-۳۸۳۸۱۰۵۸، پست الکترونیکی: [n.tana@yahoo.com](mailto:n.tana@yahoo.com)

## مقدمه

جنس *Ebenus* دارای سه بخش تحت عناوین *Euebenus* Boiss.، *Tragacanta* Jaub. Et Spach. و *Ebenidium* Boiss. (Jaub. Et Spach) و ۱۴ گونه است (۱۱ و ۳۷) که گونه *Ebenus stellata* Boiss. تنها گونه بخش *Tragacanta* می‌باشد. سایر گونه‌های این جنس همگی بومی و انحصاری کشور ترکیه هستند. گونه *E. stellata* E. بوته‌ای، خاردار، دارای گل‌آذین سنبله، با گل‌های قرمز تا قهوه‌ای، پرچم مونودلف، دانه گرده سه‌شیاری و میوه محصور در کاسبرگ می‌باشد. این گونه تنها گونه موجود

جنس *Ebenus* L. از تبار *Hedysareae* و تیره پروانه آسیایان (Fabaceae) با حدود ۲۰-۱۸ گونه در مناطق ایرانی-تورانی، شمال آفریقا، شرق مدیترانه و منطقه عربی-سندی حضور دارد (۱۰ و ۴۴). برخی ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاهان این جنس شامل: چندساله، علفی، کرک دار، برگ‌های سه‌برگچه‌ای یا مرکب‌شانه‌ای فرد، گل‌آذین کپه یا سنبله، میوه‌های کوچک، یک دانه‌ای و ناشکوفای می‌باشد (۱۱). گونه‌های این جنس دیپلوئید هستند و عدد کروموزومی آنها  $n=7$  می‌باشد (۳، ۷، ۱۱ و ۴۰).

انوزین صورت گرفت. برشهای متعددی برای هر مرحله رویان‌شناختی به کمک میکروسکوپ نوری LABOMED LX50 دارای دوربین دیجیتال LABOMED iVu 3100 در بزرگنمایی‌های مختلف عکسبرداری شدند.

به دلیل ساختار ویژه مادگی و تخمک، برشهای دستی نیز تهیه شدند: برای این کار، اندام مورد مطالعه را در میان قالب برش‌گیری قرار داده و به کمک تیغ، برشهایی نازک و یکنواخت تهیه شد. این برشها با رنگهای مختلفی چون لوگول و تولوئیدن بلو به ترتیب برای تشخیص نشاسته و ترکیبات فنلی رنگ‌آمیزی شدند. همچنین در این پژوهش ریخت‌شناسی اجزا گل با میکروسکوپ تشریحی نیز بررسی شد.

**مطالعات میکروسکوپ فلورسانس:** اتوفلورسانس لامهای آماده شده در مرحله قبل، توسط یک دیود ساطع کننده نور ماورابنفش (طول موج ۴۰۵ نانومتر) در میکروسکوپ اپی‌فلورسانت (Bell، ایتالیا) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. این میکروسکوپ مجهز به یک فیلتر ماورابنفش (۳۸۵-۳۳۰ نانومتر) به همراه یک آینه دو رنگ‌نما (۴۰۰ نانومتر) و یک فیلتر مانع (۴۲۰ نانومتر) می‌باشد.

## نتایج

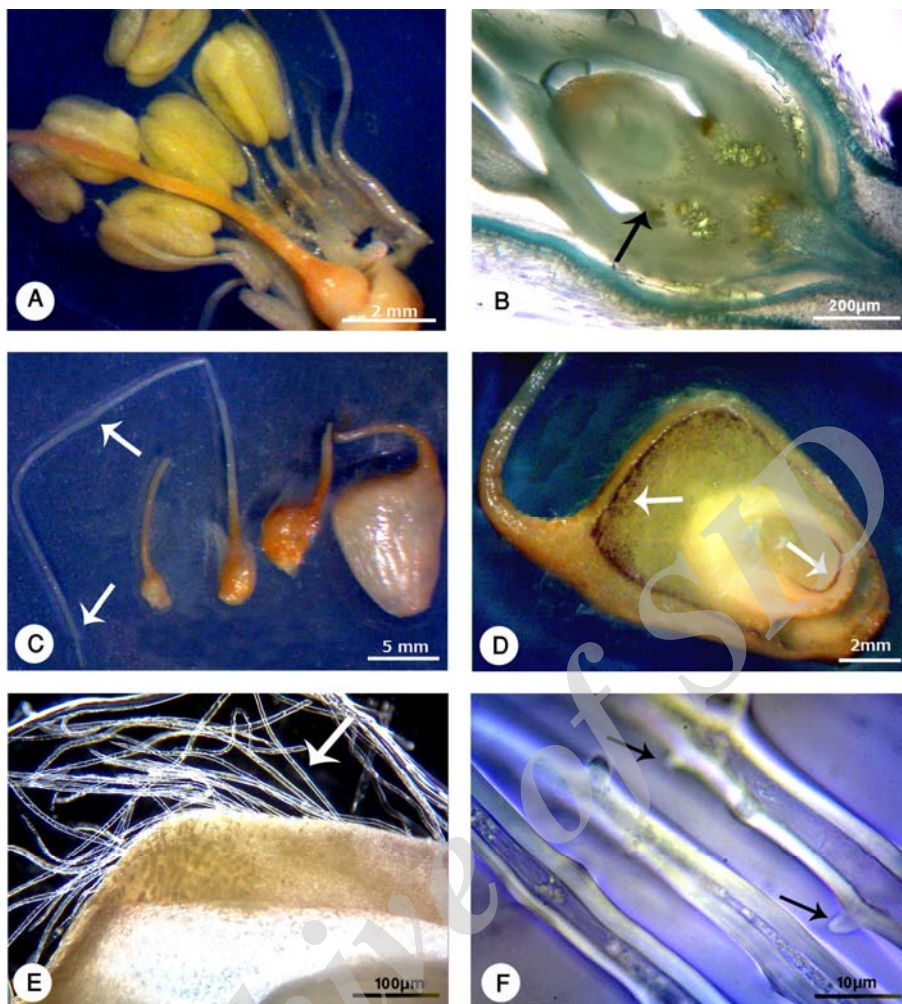
از ویژگیهای گیاه مورد مطالعه، داشتن مادگی تک‌برچه، فاقد پایک و واجد کرک است (شکل‌های ۱A, B, D, E). خامه نازک، نخ‌ی و برگشته، با کلاله‌ای کوچک و انتهایی است (شکل‌های ۱A, C). تخمدان دارای یک تخمک است که در اطراف مادگی و کیسه‌رویانی انباشتگی نشاسته توسط رنگ‌آمیزی با معرف لوگول دیده می‌شود (شکل ۱D). کرکهای تار ابریشمی انبوه سطح مادگی دارای برجستگیهای انگشت مانند می‌باشند (شکل‌های ۱E, F). در درون تخمدان، از مراحل آغازین تکوین تخمک، خمیدگی در پرموردیوم تخمک مشاهده می‌شود.

در ایران بوده و در نواحی جنوبی، غربی و مرکزی ایران پراکنده است (۳۲ و ۶۰). با وجود بررسیهای بسیار فراوانی که در حوزه تکوین اندامهای زایشی در زیر تیره Papilionoideae انجام گرفته است (۹، ۳۰، ۳۱، ۴۶، ۵۵، ۵۶، ۵۷، ۵۹، ۶۱ و ۷۰)، اما تحقیقات نشان می‌دهد که تاکنون این جنس و گونه از نظر تکوینی مورد مطالعه قرار نگرفته است. لذا در این پژوهش ساختار تشریحی مادگی، پرچم و دانه و همچنین مراحل تکوینی این اندامها در گونه مورد نظر به تفصیل توسط میکروسکوپ نوری، پلاریزان و فلورسانس و برخی معرفهای اختصاصی مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. هدف این مقاله بررسی دقیق‌تر ویژگیها و مراحل رویان‌شناسی این گیاه به منظور گسترش دانش تکوین در این تیره است. همچنین مقایسه این صفات و مراحل متعدد و با ارزش رویان‌شناسی، در کنار سایر داده‌های به دست آمده از این گیاه، می‌تواند در تحلیل بهتر اطلاعات تبار شناختی تیره پروانه‌آسیان بسیار مفید واقع شود.

## مواد و روشها

**مواد گیاهی:** در این پژوهش گیاه *E. stellata* از رویشگاههای طبیعی آن واقع در استان فارس (فارس: لار به جهرم، ۱۱۰ کیلومتری جهرم، ارتفاع ۱۱۰۰ متر) در اواخر اسفند ۱۳۹۳ تا فروردین ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد. این گیاه در هرباریوم دانشگاه بوعلی سینای همدان (BASU) با شماره هرباریومی (BASU 38951) نگهداری می‌شود.

**مطالعات میکروسکوپ نوری:** جوانه‌های کوچک، گلها و دانه‌ها در مراحل مختلف تکوینی، حداقل ۲۰ نمونه برای هر مرحله، پس از تثبیت در FAA<sub>70</sub> (Formalin, Acetic acid, Ethanol) و شستشو با آب جاری، در الکل ۷۰ درصد ذخیره سازی شدند. بافتهای قالب گیری شده در پارافین، توسط میکروتوم دستی (دید سبز، ایران) با ضخامت ۴-۷ میکرومتر برش‌گیری شدند. پس از مراحل پارافین زدایی، رنگ‌آمیزی با روش مضاعف هماتوکسیلین-



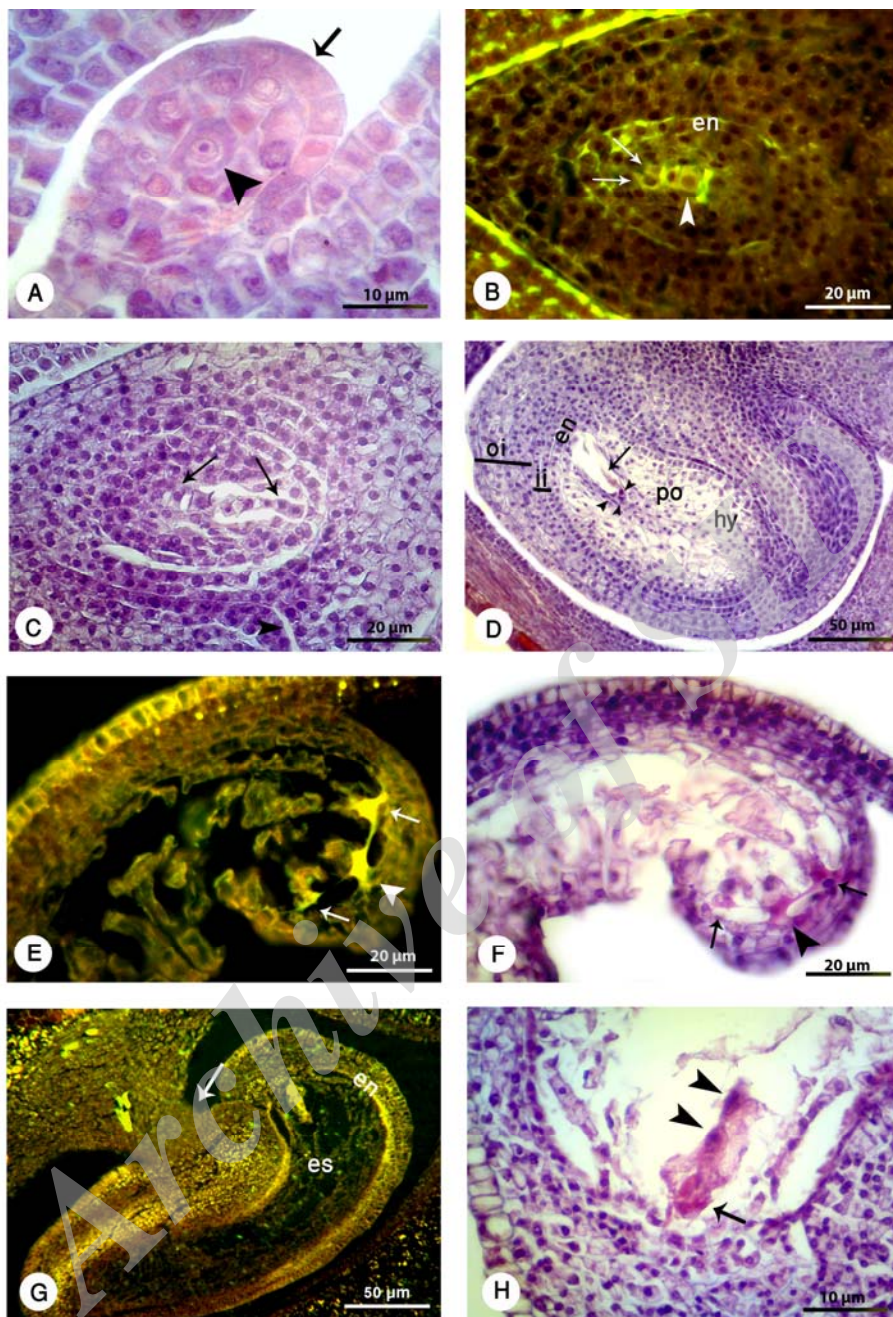
شکل ۱- ساختار غنچه گل، مادگی و کرک‌های سطح مادگی در *E. stellata*. توسط میکروسکوپ نوری و پلاریزان. A- مادگی بلندتر از پرچم‌ها است. پرچم‌ها یک دسته ای، ناجور ریخت و تا نیمه به درفش پیوسته هستند. B- رنگ‌آمیزی برش دستی غنچه گل توسط تولوئیدن بلو و نحوه قرار گرفتن مادگی فاقد پایک (↑) در گل. C- مادگی در مراحل نمو، دارای خامه نازک، نخعی و برگشته، با کلاله‌ای کوچک و انتهایی است (↑↑). D- رنگ‌آمیزی با لوگول و برش دستی مادگی، انباشتگی نشاسته را در اطراف مادگی و کیسه‌رویی نشان می‌دهد (↑↑). تخمدان تک برچه‌ای و دارای یک تخمک است. E و F- کرک‌های تار ابریشمی انبوه سطح مادگی که توسط میکروسکوپ پلاریزان عکسبرداری شده است (↑). بر سطح این کرک‌ها برجستگی‌های انگشت مانند وجود دارد (↑↑).

می‌باشد. پوسته درونی متشکل از ۲ لایه است اما پوسته خارجی از چندین لایه تشکیل شده است (شکل ۲D). از درونی‌ترین لایه پوسته درونی، لایه اندوتلیوم تشکیل می‌شود. سلولهای این لایه به صورت شعاعی امتداد یافته و دارای هسته کاملاً واضح و سیتوپلاسمی متراکم هستند (شکلهای ۲B, D, G). دو تقسیم میوز در مگاسپوروسیت، منجر به تشکیل چهار سلول تتراد می‌شود که نوع تتراد در

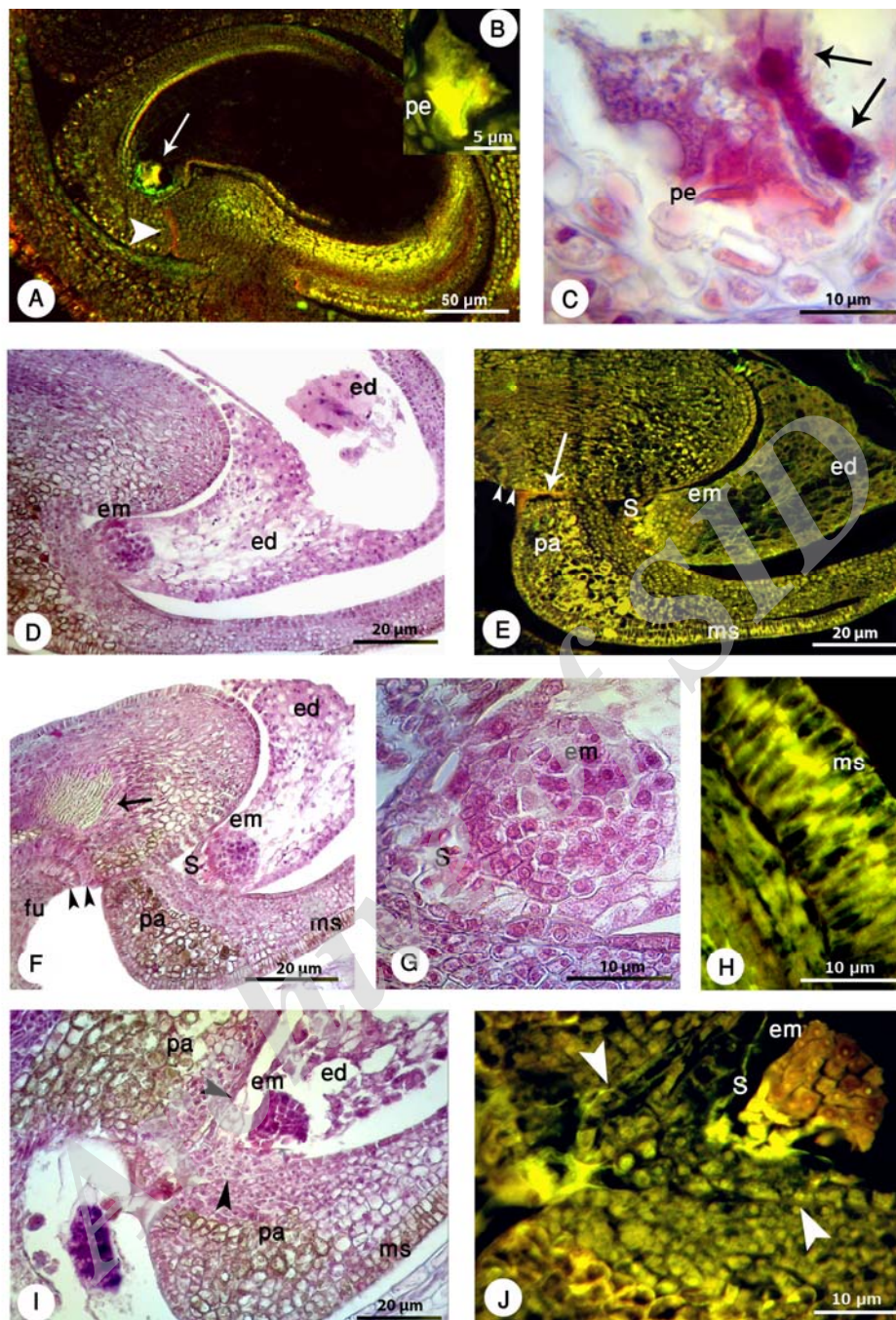
پریموردیوم تخمک، توده کوچکی از یاخته است که توسط یک لایه اپیدرم احاطه شده است (شکل ۲A). در داخل پریموردیوم تخمک یکی از یاخته‌ها به یاخته مادر مگاسپور (مگاسپوروسیت) تمایز می‌یابد که با حجم زیاد و هسته درشت خود از سایر یاخته‌ها قابل تشخیص است (شکل ۲A). در نمونه مورد مطالعه، تخمک از نوع دوپوششی، پرخورش و واژگون است و سفت از نوع زیگزوگی

همراه یک آویز (سوسپانسون) می‌شود (شکل‌های D, E, F, ۳G). سوسپانسون در گیاه مورد مطالعه کوتاه بوده و از تعداد سلول‌های کمی تشکیل شده است (شکل‌های E, F, G, ۳J). همان‌طور که در تصاویر حاصل از میکروسکوپ فلورسانس مشهود است، سلول‌های سوسپانسون دارای اتوفلورسانس بیشتری نسبت به سلول‌های اطراف خود هستند، که تشخیص آنها را از سلول‌های اطراف آسان‌تر می‌نماید (شکل‌های ۳E, J). در تمام مراحل رویانی که در تصاویر دیده می‌شود، آندوسپرم همواره در اطراف رویان به چشم می‌خورد که رفته‌رفته از حالت سنوسیت به حالت آندوسپرم سلولی تغییر می‌یابد (شکل‌های ۳C, D, E, F, I). سلولی شدن آندوسپرم از ناحیه نزدیک به رویان و پیرامون کیسه‌رویانی آغاز شده و به سمت ناحیه مرکزی پیش می‌رود (شکل ۳D). در مرحله قبل از رویان قلبی، تقسیمات مماسی (پریکلین) پوسته درونی تخمک به سمت داخل کیسه رویانی، سبب تشکیل بافتی تخصصی به نام درپوش (operculum) در ناحیه سفی کیسه‌رویانی می‌شود که در این گیاه حالتی فنجانی شکل دارد (شکل‌های ۳I, J). در کلیه مراحل رویانی مشاهده شده در تصاویر همواره سلول‌های رویان رنگ‌پذیری بیشتری را نسبت به سلول‌های اطراف خود نشان می‌دهند که نشان‌دهنده ویژگی مرستمی آنها است. در مراحل تکوین تخمک این گیاه، به تدریج بافت خورش تحلیل رفته و سرانجام خورش در دانه کاملاً ناپدید می‌شود (شکل ۳A). در پوسته دانه یک لایه سلول شعاعی کشیده شده نردبانی دیده می‌شود که فاقد فضای بین سلولی است و به نام سلول مالپیگی (malpighian) cell یا، به علت اندازه بزرگ آنها به، ماکرو اسکلرید (macroscleried) معروف می‌باشد (شکل‌های ۳E, F, H, I). در این گیاه لایه نردبانی در ناحیه ناف به صورت دولایه (double palisade) است (شکل‌های ۳E, F). هر دو لایه نردبانی در طول خط میانی، با شیار بسیار ریزی شکافته می‌شوند که محل عبور هوا و بخار آب می‌باشد.

نمونه مورد مطالعه از نوع T شکل می‌باشد (شکل ۲B). از مجموعه تترادی، سه سلول تحلیل می‌روند و یک سلول که مگاسپور عملکردی نام دارد، باقی می‌ماند. در گیاه مورد مطالعه، موقعیت مگاسپور باقی مانده بنی است (شکل ۲B). مگاسپور عملکردی پس از سه میتوز متوالی، سرانجام کیسه‌رویانی از نوع پلی‌گونوم (هشت هسته ای) را به وجود می‌آورد (شکل ۲C). سه سلول موجود در قطب سفی، دستگاه تخمزا را تشکیل می‌دهند. دستگاه تخمزا شامل یک سلول تخمزا و دو سلول سینرژید در کنار آن می‌باشد (شکل‌های ۲E, F, H). بین سلول تخمزا و دو سلول سینرژید ارتباط سیتوپلاسمی قابل تشخیص است (شکل‌های ۲E, F). در قطب بنی، سلول‌های آنتی‌پود آرایشی مثالی شکل با رنگ‌پذیری بالایی را نشان می‌دهند که با هسته‌های قطبی ارتباطات سیتوپلاسمی برقرار می‌کنند. سلول‌های آنتی‌پود بر روی ناحیه پوستامنت قرار گرفته‌اند. در گونه مورد نظر ساختارهای هیپوستاز و پوستامنت قابل مشاهده هستند. بافت پوستامنت به صورت یک ستون از سلول‌های طولی هستند که از نظر ساختاری مشابه سلول‌های پروکامبیومی می‌باشند (شکل ۲D). کیسه‌رویانی در طی بلوغ گلایی شکل شده و گسترده می‌شود (شکل ۲G). قبل از لقاح، هسته‌های قطبی در مجاورت دستگاه تخمزا واقع شده‌اند و در کنار یکدیگر به صورت جداگانه قرار گرفته‌اند (شکل ۲H). در گیاه مورد مطالعه هسته‌های قطبی حتی پس از لقاح تخمزا نیز به یکدیگر ملحق نشده و همچنان به صورت مجزا باقی می‌مانند (شکل ۳C). پس از انجام لقاح سلول تخم تشکیل می‌شود. هسته سلول تخم و سلول‌های حاصل از آن به دلیل تراکم سیتوپلاسمی بالا قابل رؤیت نیستند و اتوفلورسانس شدیدی را از خود نشان می‌دهند (شکل ۳B). بنابراین همان‌طور که در تصویر ۳C مشخص است قرمزی رنگ ائوزین، که مسئول رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم است، در ناحیه‌ای که مربوط به سلول‌های رویانی است بیشتر به چشم می‌خورد. تقسیمات متوالی در سلول تخم سرانجام سبب تشکیل رویانی کروی شکل به



شکل ۲- مراحل تکوین تخمک قبل از لقاح توسط میکروسکوپ نوری و فلورسانس. A- در داخل پریموردیوم خمیده تخمک، که توسط یک لایه اپیدرم احاطه شده (↑)، یاخته مگاسپوروسیت (▲) تمایز می‌یابد. B- تتراد T شکل (حاصل دو میوز در مگاسپوروسیت) (▲↑) و لایه اندوتلیوم (درونی‌ترین لایه پوسته درونی) زیر میکروسکوپ فلورسانس. مگاسپور باقی مانده (▲) درشت‌تر است و در ناحیه بنی قرار دارد. C- کیسه‌رویانی از نوع پلی‌گونوم (↑) و سفت از نوع زیگراگی (▲) است. D- تخمک دو پوششی، پرخورش و واژگون است. پوسته درونی دولایه‌ای و پوسته بیرونی چندلایه‌ای است. در قطب بنی آنتی پودها (▲) با آرایش مثلثی به ترتیب بر روی ناحیه پوستامنت و هیپوستاز واقع شده‌اند. بین سلول‌های آنتی‌پود با هسته‌های قطبی ارتباط سیتوپلاسمی برقرار است (↑). E و F- تصویر دستگاه تخمزا توسط میکروسکوپ نوری و فلورسانس. در قطب سفتی بین سلول تخمزا (▲) و دو سلول سینرژید (↑) ارتباط سیتوپلاسمی وجود دارد. G- کیسه‌رویانی در طی بلوغ گلابی شکل شده و گسترده می‌شود. H- قبل از لقاح، هسته‌های قطبی (▲▲) بصورت مجزا و در مجاورت دستگاه تخمزا (↑) هستند. مخفف‌ها: en: لایه اندوتلیوم؛ ii: پوسته درونی؛ oi: پوسته بیرونی؛ po: پوستامنت؛ hy: هیپوستاز



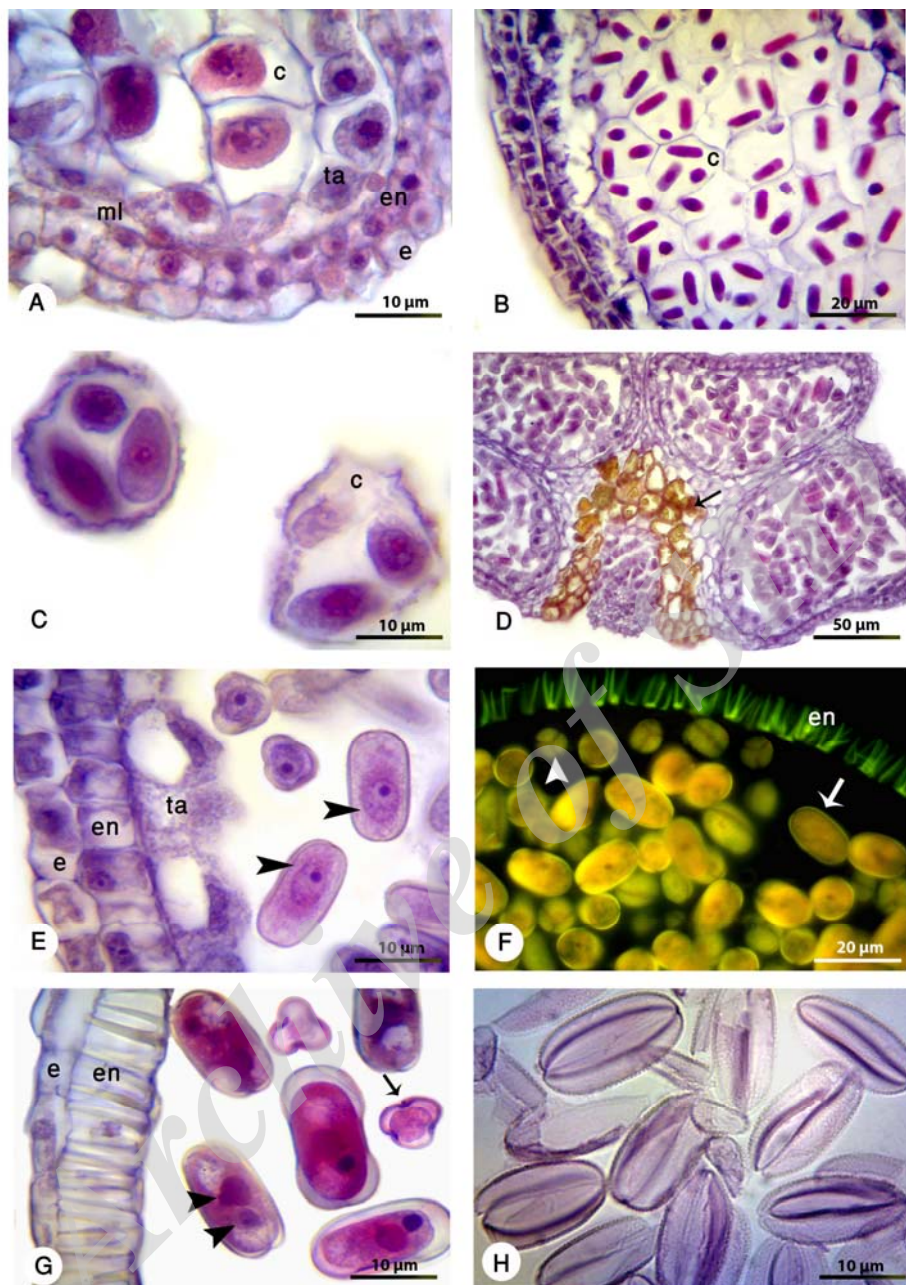
شکل ۳- مراحل تکوین تخمک پس از لقاح توسط میکروسکوپ نوری و فلورسانس. A و B- پس از لقاح سلول تخم و سلول‌های حاصل از آن (↑) اتوفلورسانس شدیدی دارند. در تصویر A مجرای سفت (Δ) و تحلیل بافت خورش نیز در دانه قابل رویت است. C- بدلیل تراکم سیتوپلاسمی بالای سلول تخم و سلول‌های حاصل از آن، هسته سلول‌ها قابل رویت نیستند و بنابراین سلول‌ها رنگ انوزین بیشتری را جذب کرده و قرمز بنظر می‌رسند. هسته‌های قطبی (↑↑) پس از لقاح تخمزا نیز مجزا باقی می‌مانند. D-G- تصویر توسط میکروسکوپ نوری و فلورسانس از رویانی کروی، آندوسپرم و سوسپانسون کوتاه که از تعداد کمی سلول تشکیل شده است. D- سلولی شدن آندوسپرم از ناحیه نزدیک به رویان و پیرامون کیسه رویانی آغاز شده و بسمت ناحیه مرکزی پیش می‌رود. E- در این تصویر مجرای سفت (↑↑) و دو لایه نردبانی در ناحیه ناف (ΔΔ) قابل رویت است. در سلول‌های پارانشیمی، انباشتگی ترکیبات فنلی اتوفلورسانس شدیدی را ایجاد می‌نماید. F- رنگ قهوه‌ای ترکیبات فنلی در سلول‌های پارانشیمی در رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و انوزین، اثر تراکنید (↑)، یک لایه سلول ماکرو اسکلرید در پوسته دانه و دو لایه نردبانی در مجاورت فونیکول (▲▲). I- در این تصویر مجرای سفت (↑↑) و دو لایه نردبانی در ناحیه ناف (ΔΔ) قابل رویت است. J- در این تصویر مجرای سفت (↑↑) و دو لایه نردبانی در ناحیه ناف (ΔΔ) قابل رویت است.

H- لایه ماکرو اسکلرید پوسته دانه با سلول‌های بزرگ، کشیده شده و فاقد فضای بین سلولی. I و J- مرحله قبل از رویان قلبی، سوسپانسونور و بافتی تخصصی درپوش (operculum) فنجان‌ی شکل در ناحیه سفتی که حاصل تقسیمات پریکلین پوسته درونی تخمک بسمت داخل کیسه‌روییانی است. مخفف‌ها: pe: پیش رویان؛ ed: اندوسپرم؛ em: رویان؛ S: سوسپانسونور؛ pa: پارانشیم؛ ms: ماکرو اسکلرید؛ fu: فونیکول.

وجود می‌آورند (شکلهای ۴B, C). تحلیل لایه کالوز اطراف تتراده‌ها، پس از تکمیل مراحل مختلف میوز و سیتوکینز منجر به آزادی گرده‌های جوان می‌شود (شکلهای ۴D, E). در این مرحله میکروسپوره‌های رها شده دارای سیتوپلاسم متراکم، هسته‌های مرکزی و فاقد واکوئل هستند و در ابتدا شکل نامنظمی دارند (شکل ۴D). سپس لایه آگزین به کمک لایه تاپی در دانه‌های گرده تکمیل شده و واکوئلی بزرگ، سیتوپلاسم و هسته را به طرف دیواره می‌راند (شکل ۴E, F). در مرحله بعد هسته میکروسپورها با تقسیم میتوز، دو هسته با اندازه‌های مختلف را به وجود می‌آورد. در نهایت در دانه‌های گرده بالغ دو هسته‌ای است که هسته بزرگتر، هسته رویشی و هسته کوچکتر، زایشی می‌باشد. بنابراین در گیاه مورد نظر دانه‌های گرده بالغ از نوع دو یاخته ای هستند. دانه‌های گرده در نمای قطبی، کرووی و دارای سه منفذ رویشی با فواصل منظم در محیط می‌باشند (شکل ۴G). در نمای استوائی، دانه‌های گرده بیضی شکل، دوکی و دارای سه شیار در محور طولی هستند. تزئینات مشخصی بر روی دیواره آگزین به وضوح با میکروسکوپ پلاریزان نیز به چشم می‌خورد (شکلهای ۴F, G, H). در گیاه مورد پژوهش، هر یک از لایه‌های ذکر شده در دیواره کیسه‌های گرده از یک ردیف سلول تشکیل شده‌اند. لایه میانی نیز تک‌لایه‌ای و دارای سلولهای باریک و کشیده‌ای می‌باشد که موقت است و در همان مراحل اولیه تکوین گرد ه‌ها به مصرف می‌رسد (شکل ۴E). بنابراین طبق تقسیم‌بندی که بر اساس نوع لایه‌های میانی تعیین می‌شود، نمو دیواره بساک در نمونه مورد نظر از نوع دولپه‌ای (type II) است. سلولهای لایه تاپی در این گونه تک هسته‌ای و از نوع ترش‌حی است و تا زمان تحلیل موقعیت خود را حفظ می‌نمایند. با توجه به اندازه هسته، سلولهای تاپی پلی‌پلوئیدی بالایی را نشان می‌دهند که برای متابولیسم آنها ضروری است.

این شیار به دستجات تراکتیدی هدایت می‌شود که به اثر تراکتید (tracheid bar) معروف است (شکل ۳F). رد تراکتید با غلافی از سلولهای پارانشیمی کشیده پوشیده شده است که در بخش دیگری از این ساختار پارانشیم ستاره‌ای قرار دارد (شکلهای ۳E, F, I). انباشتنی ترکیبات فنلی در داخل سلولهای پارانشیمی، اتوفلورسانس شدیدی را از خود به نمایش می‌گذارد (شکل ۳E). این ترکیبات با رنگ‌آمیزی توسط هماتوکسیلین و ائوزین و تصویر برداری توسط میکروسکوپ نوری، رنگ قهوه‌ای متفاوتی را در سلولهای پارانشیمی اطراف، از خود نشان می‌دهند (شکلهای ۳F, I).

**تکوین بساک و دانه گرده:** در گیاه مورد مطالعه، پرچمها یک دسته‌ای (مونودلف)، ناجورریخت، تا نیمه به درفش پیوسته و نسبت به مادگی کوتاه‌تر هستند. (شکل ۱A). لایه‌های تشکیل دهنده دیواره بساک از بیرون شامل: لایه اپیدرم (اگزوتسیوم)، لایه مکانیکی (آندوتسیوم)، لایه میانی و لایه مغذی (تاپی) می‌باشند. در این گیاه لایه میانی از یک ردیف سلول تشکیل شده است (شکل ۴A). در کیسه‌های گرده، یاخته‌های مادرگرده (میکروسپوروسیت) که با هسته درشت، سیتوپلاسم متراکم و رنگ‌پذیری متفاوت خود قابل تشخیص هستند، وارد تقسیم میوز می‌شوند. کمی پیش از شروع میوز، دیواره کالوزی در اطراف یاخته‌های مادرگرده تشکیل می‌شود (شکل ۴A). همان گونه که در شکل ۴D مشاهده می‌شود، بساکها دو خانه و چهار کیسه‌گرده‌ای هستند و در گونه مورد نظر تکوین دانه‌های گرده در داخل کیسه‌های گرده یک بساک به صورت هم‌زمان شکل می‌گیرد. همچنین در اطراف میله پرچم، سلولهایی که مملو از مواد فنلی هستند نیز به چشم می‌خورد (شکل ۴D). یاخته مادرگرده پس از عبور از مراحل مختلف میوز در نهایت تترادهایی که اغلب از نوع تتراهدردال هستند، را به



شکل ۴- مراحل تکوین بساک و دانه‌گرده توسط میکروسکوپ نوری، پلاریزان و فلورسانس.

A- لایه‌های دیواره بساک: لایه اپیدرم، مکانیکی، میانی یک‌ردیفی و تاپی ترش‌خی می‌باشند. دیواره کالوزی در اطراف یاخته‌های مادرگرده با هسته درشت، سیتوپلاسم متراکم و رنگ‌پذیری بالا مشخص می‌باشند. B و C تترادهایی که اغلب از نوع تتراهدرال هستند در درون دیواره کالوزی محصور می‌باشند. D- بساک‌ها دو خانه و چهار کیسه‌گرده‌ای هستند و تکوین دانه‌های‌گرده در کیسه‌های‌گرده یک بساک هم‌زمان است. گرده‌های جوان پس تحلیل لایه کالوز با سیتوپلاسم متراکم، هسته مرکزی و شکل نامنتظمی رها می‌شوند. سلول‌های اطراف میله پرچم مملو از مواد فتلی (↑) می‌باشند. E و F- لایه‌های‌گرده (↑) بکمک لایه تاپی تکمیل شده و واکنشی بزرگ، سیتوپلاسم و هسته (▲▲) را بطرف دیواره می‌رانند. لایه مغذی واکتوله شده و بتدریج تجزیه می‌شوند. در لایه مکانیکی ضخیم شدگی‌های فیبری ایجاد می‌شود. دانه‌های‌گرده بیضی شکل، دوکی و سه‌شیار (Δ) هستند. G- دانه‌های‌گرده بالغ دوهسته‌ای (▲▲) که هسته بزرگتر، هسته رویشی و هسته کوچکتر، زایشی می‌باشد. نمای قطبی میکروسپورها کروی با سه منفذ رویشی (↑) با فواصل منظم است. H- نمای استوائی، دانه‌های‌گرده بیضی، دوکی شکل با تری‌نات روی دیواره‌های‌گرده توسط میکروسکوپ پلاریزان مخفف‌ها: c: لایه کالوز؛ ta: لایه تاپی؛ en: لایه مکانیکی؛ e: اپیدرم؛ ml: لایه میانی.



۶۷). در حالی که در برخی تاکسون‌های این تیره ضخامت پوسته درونی از دو لایه بیشتر است (۵ و ۶).

موقعیت هسته‌های قطبی قبل از لقاح نسبت به سایر سلولهای کیسه‌رویانی و زمان ترکیب هسته‌های قطبی متفاوت است و از اختصاصات تاکسون می‌باشد (۱۳). مطالعات گذشته بر روی تیره Fabaceae نیز نشان می‌دهد که هسته‌های قطبی موقعیت‌های بسیار مختلفی در این تیره دارند و غالباً سریع با یکدیگر تلفیق می‌شوند (۱۷، ۱۹، ۲۱، ۳۸، ۴۲، ۵۵، ۶۴، ۶۵). اما در گیاه مورد مطالعه چنانچه ذکر شد، هسته‌های قطبی قبل از لقاح در مجاورت دستگاه تخمزا و به صورت جداگانه قرار گرفته‌اند و پس از لقاح سلول تخمزا و تشکیل سلول تخم اصلی نیز به یکدیگر ملحق نشده و همچنان تا مدت‌ها به صورت مجزا باقی می‌مانند.

لایه اندوتلیوم در تخمک‌هایی که بافت خورش در آنها به سرعت تحلیل می‌رود، گستره کیسه‌رویانی را تعیین کرده و آن را محدود می‌سازد (۱۵). همچنین وجود این لایه در اطراف کیسه‌رویانی بعنوان سدی از خروج جانبی مواد و عناصر مغذی از این بافت جلوگیری می‌کند (۱۴). بر اساس گزارش Sun و همکارانش (۲۰۰۴) ساختارهای هیپوستاز و پوستامنت، که مطابق معمول در قطب بنی گیاه مورد مطالعه وجود دارند، در تغذیه و محافظت از این گیاه نقش عمده‌ای را بر عهده دارند (۶۳). این ساختارهای تخصصی همواره ارتباط آوندی کیسه‌رویانی با سیستم آوندی تخمک را برقرار می‌سازند (۶۸). ریخت‌شناسی سوسپانسون در تیره پروانه‌آسایان بسیار متنوع است (۳۹). در *Phaseolus* سوسپانسون حالتی مکعبی شکل پیدا کرده و حدوداً شامل ۲۰۰ سلول می‌باشد (۲۲)، در حالی که در *Senna corymbosa* و زیر قبیله *Cassiinae* مانند نمونه مورد این مطالعه از توسعه و نمو کمی برخوردار است (۲۵) و (۵۸). در این گیاه بافت تخصصی درپوش که از پوسته درونی تخمک منشا می‌گیرد، برخلاف مطالعات قبلی بر

بررسی لایه‌های بساک در مراحل تکوینی مختلف نشان داد که یاخته‌های لایه مغذی در طی فرآیند میکروسپورزایی و اکئوله شده و به تدریج تجزیه می‌شوند (شکل ۴E). چنانچه در مراحل انتهایی تکوین دانه‌های گرده، لایه تاپی کاملاً از بین رفته و تنها لایه مکانیکی و لایه اپیدرمی در دیواره بساک باقی می‌مانند (شکل‌های ۴F, G). بمرور زمان در دیواره سلولهای لایه مکانیکی ضخیم شدگی‌های فیبری ایجاد می‌شود که می‌تواند در شکوفایی این لایه و پراکندگی دانه‌های گرده نقش مهمی را ایفا نماید. (شکل‌های ۴F, G).

## بحث

در *E. stellata* نمو کیسه‌رویانی بالغ از نوع پلی‌گونوم است که نوع رایج در تیره پروانه‌آسایان می‌باشد (۱۲، ۳۱، ۴۶، ۵۵، ۵۶). این نوع از کیسه‌رویانی معمول‌ترین نوع در بین نهادانگان است و بعنوان خصوصیت ابتدایی در نظر گرفته می‌شود (۴۳). در تیره پروانه‌آسایان تخمک پر خورش است (۳۰، ۳۱، ۴۶، ۵۴، ۵۴) که در *E. stellata* نیز چنین می‌باشد. رشد نامتقارن در ناحیه بند (فونیکول) در این گیاه، مانند برخی لگوم‌های دیگر (۱۶، ۳۱، ۵۴، ۵۷)، دلیل چرخش و در نهایت واژگونی در تخمک است. نوع تتراد در نمونه مورد مطالعه از نوع T شکل است که با شکل تتراد در بسیاری از لگوم‌های بررسی شده مطابقت دارد (۱۸، ۱۹، ۳۰، ۵۶). اما شکل تتراد در Fabaceae می‌تواند بسیار متنوع باشد (۳۱، ۴۴، ۵۹). چنانچه Rembert Junior (۱۹۶۶، ۱۹۶۷، ۱۹۶۹، ۱۹۷۱) از این صفت در فیلوژنی لگوم‌ها استفاده کرد. پژوهش حاضر نشان می‌دهد که موقعیت مگاسپور باقی مانده بنی است که این یافته با یافته‌های موجود در تبار *Hedysareae* مطابقت دارد (۱۹، ۶۱). پوسته درونی تخمک در نمونه مورد مطالعه مانند اغلب افراد تیره پروانه‌آسایان از دو لایه تشکیل شده است (۸، ۹، ۱۹، ۲۱، ۲۶، ۲۷، ۳۶، ۴۱، ۴۲، ۴۶، ۵۳، ۵۷، ۶۲،

میانی یا تاپی می باشد و این دیواره در تاکسونهای ابتدایی ضخیم‌تر است (۱۱). انواع نمو دیواره بساک در گیاهان بر اساس تعداد لایه‌های میانی شامل: نوع پایه (type I)، نوع دولپه‌ای (type II)، نوع تک‌لپه‌ای (type III) و نوع کاهش یافته (type IV) می‌باشد. در تیره پروانه‌آسایان تعداد لایه‌های میانی بین یک عدد که به نوع دو لپه‌ای (۲۹ و ۶۷) معروف است و دو عدد که به نوع پایه (۱۹، ۴۱، ۴۲، ۵۵، ۶۴، ۶۵) معروف است، می‌باشد. در اغلب گیاهان لایه میانی به شکل موقت است و پیش از تجزیه لایه تاپی به تدریج تجزیه می‌شود. اما گاهی این لایه تا زمان بلوغ دانه کرده باقی می‌ماند و پس از تجزیه تاپی از بین می‌رود. معمولاً زمانی که تعداد لایه‌ها متعدد است لایه میانی برای مدت طولانی‌تری پایدار می‌ماند و سپس بتدریج تجزیه می‌شود (۱۳). در نمونه مورد مطالعه نیز لایه میانی دارای سلولهای موقت است که در مراحل اولیه تکوین گرده‌ها تحلیل می‌روند. در نهان‌دانگان دو نوع اصلی نمو لایه تاپی وجود دارد که شامل ترشچی و آمیبی می‌باشد (۴۸). در مطالعات گذشته بر روی این تبار و همچنین مطالعات متعددی که بر روی تیره پروانه‌آسایان صورت گرفته است، همانند نمونه حاضر، نوع لایه تاپی ترشچی می‌باشد (۱، ۱۹، ۲۰، ۴۱، ۴۲، ۵۵، ۶۴ و ۶۵). سلولهای لایه تاپی همیشه موقت یا ناپایدار هستند. در *E. stellata* لایه تاپی تا زمانی که گرده‌ها از کالوز رهایی یابند نیز وجود دارد و در مراحل پایانی به تدریج تحلیل می‌رود. از اعمال تاپی رساندن مواد مغذی به میکروسپورها و ترشح آنزیم کالاز برای حل کردن دیواره کالوزی تتراد است که سبب رهایی میکروسپورها می‌شود. همچنین موجب تشکیل پیش‌ساختهای آگزین می‌شوند و در تشکیل آگزین با گامتوفیت‌نر مشارکت می‌نمایند (۱۳). در بافت رابط بساک برخی گیاهان، مانند نمونه مورد نظر، سلولهای ذخیره‌ای ویژه‌ای وجود دارند که مواد مختلفی را در خود جمع‌آوری می‌نمایند (۲ و ۱۳). در مورد نمای ظاهری دانه‌های گرده، مشاهدات این تحقیق با مشاهدات قبلی که ظاهر دانه گرده

روی گیاهان هم تبار آن (۱۸، ۱۹ و ۶۴)، در ناحیه سفتی کیسه‌رویی به حالت فنجان‌ی شکل به خوبی متمایز است. بافت درپوش محافظت از ناحیه سفتی و رویان در مراحل بعدی را بر عهده دارد و به جوانه زنی دانه نیز کمک می‌کند (۱۳). در لگومها وقتی دانه از بند جدا می‌شود، لایه ریزش ایجاد شده و ناف به وضوح مشخص می‌شود. خصوصیات ناف در پروانه‌آسایان می‌تواند این زیر تیره را از زیر تیره‌های دیگر جدا نماید (۳۳). همچنین Corner (۱۹۵۱ و ۱۹۷۶) به نقش پوسته دانه در رده بندی لگومها پرداخت (۲۳ و ۲۴). لایه ماکرو اسکلرید در *E. stellata* در خارجی‌ترین لایه پوست دانه با ضخامت قابل توجهی وجود دارد. تشکیل این لایه از ویژگیهای بارز پوسته دانه در تیره Fabaceae است (۴، ۳۴، ۳۵، ۴۵ و ۶۹) و وجود آن سبب عدم نفوذ آب از این قسمت به داخل دانه لگومها می‌شود. لایه نردبانی دولایه و دستجات تراکئیدی (اثر تراکئید) به عنوان یک معبر جاذب رطوبت هستند و در حمل و نقل کوتاه مسیر آب در دانه مطرح هستند (۴۷). ترکیبات فنلی در اندامهای زایشی مختلفی در این گیاه وجود دارند. این ترکیبات عملکردهای محافظتی خاصی را در گیاهان به عهده داشته و می‌توانند در پاسخ به تشبهای محیطی ساخته شده و نقش دفاعی را در گیاه ایفا نمایند (۲۹). یکی از ویژگیهای بارز در گل تیره Fabaceae اتصال پرچمها به یکدیگر است که سبب محدود شدن رفتار حشرات گرده افشان می‌شود (۲۸). در گیاهان گلدار تعداد کیسه‌های گرده بساک غالباً چهار عدد است. اما در برخی گونه‌ها ممکن است تعداد کیسه‌های گرده در بساک کمتر باشد (۱۳). در گیاه مورد نظر مانند سایر اعضا زیرتیره Papilionoideae، پرچمها ناجور ریخت (به صورت کوتاه و بلند) و بساکها چهار کیسه‌گرده‌ای هستند (۲۰، ۳۱، ۴۱، ۴۲، ۶۵، ۶۶). دیواره کیسه‌های گرده *E. stellata* از نوع دولپه‌ای (dicotyledonous) شامل: اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی با یک ردیف سلول و لایه تاپی است. افزایش حجم دیواره کیسه گرده به علت افزایش تعداد لایه‌های

مشبک گزارش کرده بود مطابقت دارد (۳۲).

*E. stellata* را در نمای قطبی و استوایی بترتیب مدور، بیضی شکل، کشیده (perprolate) و سه شیباری با تزئینات

## منابع

- ۱- جعفری، س.، حمدی، م.، تقی مومنی، م. و سفادرانی، ر. ۱۳۹۴. بررسی ساختار تشریحی اندام‌های رویشی و زایشی در گیاه خارستر *Alhagi persarum* L. (مجله زیست‌شناسی ایران). ۲۸: ۷۳۶-۷۲۶.
- ۲- چهرگانی راد، ع.، محسن زاده، ف. و غفوری، س. ۱۳۹۳. مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. *Odontostephana* (مجله زیست‌شناسی ایران). ۲۷: ۵۴۴-۵۵۶.
- 3- Aksoy, H., Unal, F., Aytac, Z. 2001. Karyological study on four endemic *Ebenus* L. taxa (Leguminosae) in Turkey. *Caryologia* 54:307-311.
- 4- Algan, G., Bakar Büyükkartal, HN. 2000. Ultrastructure of seed coat development in the natural 292 tetraploid *Trifolium pratense* L. *Journal of Agronomy and Crop Science* 184: 205-213.
- 5- Anantaswamy, RM. 1951. The endosperm in some of the Papilionaceae. *Phytomorphology* 1: 153-158.
- 6- Anantaswamy, RM. 1953. Some observations on the endosperm in Papilionaceae. *Phytomorphology* 3: 209-222.
- 7- Arslan, E., Ertugrul K., Tugay, O., Dural, H. 2012. Karyological studies of the genus *Onobrychis* Mill. and related genera *Hedysarum* L. and *Sartoria* Boiss. & Heldr. (Fabaceae, *Hedysareae*) from Turkey. *Caryologia*. 65:11-17.
- 8- Ashrafunnisa, A., Pullaiah, T. 1994. Embryology of *Galactia* (Fabaceae). *Phytomorphology* 44: 253-260.
- 9- Ashrafunnisa, A., Pullaiah, T. 1999. Embryology of *Teramusalbialis* (Fabaceae). *Phytomorphology* 49: 192-202.
- 10- Aytac, Z. 2000. The genus *Ebenus* L. (Leguminosae/Fabaceae) in Turkey. *Karaca Arboretum Magazine* 5:145-171.
- 11- Aytac, Z., Unal, F., Pinar, MN. 2000. Morphological, palinological and cytotaxonomical study of *Ebenus longipes* Boiss. and Bal. and *E. argentea* Siehe ex Bornm (Leguminosae) from Turkey. *Israel Journal of Plant Science* 48:321-326.
- 12- Bakar Büyükkartal, HN. 2009. Ultrastructural changes of the egg apparatus associated with fertilization of natural tetraploid *Trifolium pratense* L. (Fabaceae). *Biological Research* 42: 25-30.
- 13- Batygina, TB. 2002. Embryology of Flowering Plants: Terminology and Concepts, Volume 1: Generative Organs of Flower. Enfield, NH: Science Publishers.
- 14- Bittencourt, NJ., Mariath, JE. 2002. Ovule ontogeny of *Tabebuia pulcherrima* Sand with (Bignoniaceae): embryo sac development. *Revista Brasileira de Botânica* 25: 103-115.
- 15- Bouman, F. 1984. The ovule. In: Johri BM, ed. *Embryology of angiosperms*. Berlin: Springer, 123-157.
- 16- Bouman, F., Boesewinkel, FD. 1991. The campylootropous ovules and seed, their structure and functions. *Botanische Jahrbücher für Systematik* 113: 255-270.
- 17- Chamberlin, M.A., Horner TH., Palmer, RG. 1994. Early endosperm, embryo and ovule development in *Glycine max* (L.) Merr. *International Journal of Plant Sciences* 155: 421-439.
- 18- Chehregani, A., Majd, A. 1992. Studies on developmental process in ovules of *Soja Glycine max* L. plants and effects of certain toxins and environmental pollutants. *Acta Horticulturae* 319: 431-436.
- 19- Chehregani, A., Mohsenzadeh, F., Tanaomi N. 2011. Comparative study of gametophyte development in the some species of the genus *Onobrychis*: Systematic significance of gametophyte futures. *Biologia* 66: 229-237.
- 20- Chehregani A, Tanaomi N, Ranjbar M (2008). Pollen and anther development in *Onobrychis shahuensis* Bornm. (Fabaceae). *International Journal of Botany* 4:241-244.
- 21- Chehregani, A., Tanaomi, N. 2010. Ovule ontogenesis and megagametophyte development in *Onobrychis schahuensis* Bornm. (Fabaceae). *Turk J Bot.* 34:241-248.
- 22- Cionini, PG. 1987. The suspensor and its role in embryo development in *Phaseolus*

- (Papilionaceae): A review. *Atti della Società Toscana de Scienze Naturali di Pisa* 94:151-161.
- 23- Corner, E.J.H. 1951. The leguminous seed. *Phytomorphology* 1:117-150.
- 24- Corner, E.J.H. 1976. The seed of Dicotyledons. 2 vols. Cambridge University Press, Cambridge.
- 25- De-Paula, OC., Oliveira, DMT. 2012. Seed ontogeny of *Chamaecrista* and its systematic implications in Cassiinae (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Plant Systematics and Evolution* 298: 1659-1669.
- 26- Deshpande, PK., Bhasin, RK. 1976. A contribution to the life history of *Zorniadiphylla* Pers. *Journal of Indian Botanical Society* 55:115-124.
- 27- Dnyansagar, VR. 1957. Embryological studies in the Leguminosae. V. *Prosopis spicigera* and *Desmanthusvirgatus*. *Botanical Gazette* 118:180-186.
- 28- Etcheverry, AV., Protomastro, J., Westerkamp, C. 2003. Delayed autonomous self-pollination in the colonizer *Crotalaria micans* (Fabaceae: Papilionoideae): structural and functional aspects. *Plant Systematic and Evolution* 239: 15-28.
- 29- Evert, R. 2006. *Esau's Plant Anatomy*, 3rd edition, John Wiley & Sons, New Jersey.
- 30- Faigo'n-Soverna, A., Galati B, Hoc P. 2003. Study of ovule and megagametophyte development in four species of subtribe Phaseolinae (Leguminosae). *Acta Biol Cracov Ser Bot.* 45:57-67.
- 31- Galati, BG., Rosenfeldt S., Tourn, GM. 2006. Embryological studies in *Lotus glaber* (Fabaceae). *Annales Botanici Fennici.* 43:97-106.
- 32- Ghanavati, F., Amirabadizadeh, H. 2012. Pollen grain morphology in Iranian Hedysareae (Fabaceae). *Crop Breeding Journal* 2:25-33.
- 33- Gunn, CR. 1981. Seeds of leguminosae. In: Polhill CH, Raven PH, eds. *Advances in legume systematics*, Vol. 2. Kew: Royal Botanic Gardens 913-925.
- 34- Harris, WM. 1984. On the development of osteosclereids in seed coats of *Pisum sativum* L. *NewPhytologist* 98: 135-141.
- 35- Harris, WM. 1987. Comparative ultrastructure of developing seed coats of hard-seeded and soft-seeded varieties of soybean, *Glycine max* (L.) Merr. *Botanical Gazette* 148: 324-331.
- 36- Hindmarsh, GJ. 1964. Gametophyte development in *Trifolium pratense* L. *Australian Journal of Botany* 12:1-14.
- 37- Huber-Morath, A. 1970. *Ebenus*. In: Flora of Turkey and the east Aegean Islands (ed. Davis, P. H.) 3:590-596. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- 38- Johansson, M., Walles, B. 1994. Functional anatomy of the ovule in broad bean (*Vicia faba* L.): Ultrastructural seed development and nutrient pathways. *Annals of Botany* 74:233-244.
- 39- Lersten, NR. 1983. Suspensors in Leguminosae. *Botanical Review* 49:233-257.
- 40- Lewke Bandara, N., Papini, A., Mosti, S., Brown, T., Smith, L. 2013. A phylogenetic analysis of genus *Onobrychis* and its relationships within the tribe Hedysareae (Fabaceae). *Turk J Bot* 43:2769-2785.
- 41- Liu, CC. Huang, TC. 1999. Microsporogenesis and exine substructure in *Uraria crinita* (Fabaceae). *Grana* 38:277-283.
- 42- Liu, CC. Huang, TC. 2003. Anther and pollen wall development in *Dumasia miaoliensis* Liu and Lu (Fabaceae). *Taiwania* 48:273-281.
- 43- Liu, ZW, Xiao,DX., Zhang, L., Lian, FQ., Tu, SP. 2003. Microsporogenesis and development of male gametophyte in *Lycoris radiata* Herb. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis* 28:234-238.
- 44- Mabberley, DJ. 1990. *The plant-book. A portable dictionary of the higher plants.* University Press Cambridge.
- 45- Manning,JC., Van Staden, J. 1979. The development and ultrastructure of the tasta and tracheid bar in *Erythrina lysistemon* Hutch. (Leguminosae: Papilionoideae). *Protoplasma* 129:157-167.
- 46- Moço, MCC., Mariath, JEA. 2003. Ovule ontogenesis and megasporogenesis in *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. (Leguminosae-Papilionoideae). *Revista Brasileira de Botanica* 26:495-502.
- 47- Mosti, S., Friedman, CR., Piccolin, F., Di Falco, P., Papini A. 2012. The unusual tegumental tissues of the *Lunaria annua* (Brassicaceae) seed: A develop-mental study using light and electron microscopy. *Flora* 207:828-837.
- 48- Pacini, E., Franchi, GG., Hesse, M. 1985. The tapetum: its form, function and possible phylogeny in Embryophyta. *Plant System and Evolution.* 149:155-185.

- 49- Rembert Junior, DH. 1966. Megasporogenesis in *Laburnum anagyroides* Medic. a case of bisporic development in Leguminosae. Transactions Kentucky Acad. Sci. 27:47-50.
- 50- Rembert Junior, DH. 1967. Development of the ovule and megagametophyte in *Wisteria sinensis*. Botanical Gazette 128:223-229.
- 51- Rembert Junior, DH. 1969. Comparative megasporogenesis in Papilionaceae. American Journal of Botany 56:584-591.
- 52- Rembert Junior, DH. 1971. Phylogenetic significance of megaspore tetrad patterns in Leguminales. Phytomorphology 21:317-416.
- 53- Rembert Junior, DH. 1977. Contribution to ovule ontogeny in *Glycine max*. Phytomorphology 27:368-370.
- 54- Rezanejad, F. 2006. Zygotic Embryogenesis in *Spartium junceum* L. (Fabaceae): Development of embryo and suspensor. International Journal of Botany 2:113-16.
- 55- Rezanejad, F. 2007. The effect of air pollution on Microsporogenesis in *Spartium Junceum* L. (Fabaceae). Turkish Journal of Botany 31:183-191.
- 56- Riahi, M., Zarre, S., Chehregani, A., Shahsavan-Behboudi, B. 2003. Seed development in two species of medifixed hairy Astragalus (Fabaceae). Flora 198:211-219.
- 57- Riahi, M., Zarre, S. 2009. Seed development in *Astragalus cemerinus* and *A. ruscifolius* (Fabaceae), and its systematic implications. Acta Biologica Cracoviensia 51:111-117.
- 58- Rodriguez-Pontes, M. 2007. Development of megagametophyte, embryo, and seed in *Senna corymbosa* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby (Leguminosae - Caesalpinioideae). Botanical Journal of the Linnean Society 153:169-179.
- 59- Rodriguez-Pontes, M. 2008. Seed formation in two species of *Adesmia* (Fabaceae): co-occurrence of micropylar and lateral endosperm haustoria in legumes and its taxonomic value. Botanical Journal of the Linnean Society 158:602-612.
- 60- Rechinger, KH. 1984. Tribus Hedysareae. In: Papilionaceae II, Flora Iranica, Nr. 157:365-475.
- 61- Salinas-Gamboa, R., Johnson SD., Sanchez-Leon, N., Koltunow, AMG., Vielle-Calzada, JP. 2016. New observations on gametogenic development and reproductive experimental tools to support seed yield improvement in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Plant Reprod. doi:http://dx.doi.org/10.1007/s00497-015-0273-3.
- 62- Smith, BW. 1956. Arachis hypogea: normal megasporogenesis and syngamia with occasional single fertilization. American Journal of Botany 43:81-89.
- 63- Sun, K., Hunt, K. Hauser, BA. 2004. Ovule Abortion in Arabidopsis Triggered by Stress. Plant Physiology 135: 2358-2367.
- 64- Tanaomi, N., Jonoubi, P., Chehregani, A., Majd, A., Ranjbar, M. 2016. Embryology of *Onobrychis persica* Sirj. and Rech. f. (Fabaceae) and its systematic implications. Caryologia 69:256-266.
- 65- Teixeira, SP., Forni-Martins, ER., Ranga, NT. 2002. Development and cytology of pollen in *Dahlstedtia Malme* (Leguminosae: Papilionoideae). Botanical Journal of the Linnean Society 138:461-471.
- 66- Tucker, SC. 2003a. Floral Development in Legumes I. Plant Physiology 131:911-926.
- 67- Vardar, F. 2013. Developmental and cytochemical features of female gametophyte in endemic *Lathyrus undulatus* (Fabaceae). International Journal of Agriculture & Biology 15:135-139.
- 68- Venkata Rao, C. 1963. Studies in the Proteaceae. 3. Tribe Oriteae. Proc. Nat. Instit. Sci. India 29:489-510.
- 69- Wilson, CA. 2001. Floral stages, ovule development, and ovule and fruit success in *Iris tenax*, focusing on var. *Gormanii*, a taxon with low seed set. American Journal of Botany 88:2221-2231.
- 70- Zulkarnain, Z. 2005. Embryology of *Swainsona formosa* (Fabaceae): Anther and Ovule Development. Hayati Journal of Biosciences 12:11-16.

## The study of structural and developmental characters of pollen grain, ovule and seed in *Ebenus stellata*

Tanaomi N.<sup>1</sup>, Jonoubi P.<sup>1</sup>, Chehregani Rad A.<sup>2</sup>, Majd A.<sup>1</sup> and Ranjbar M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Plant Biology Dept., Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, I.R. of Iran

<sup>2</sup> Biology Dept., Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

### Abstract

Structural and developmental characters of reproductive organs and seed in *Ebenus stellata* Boiss., which is the only species of *Ebenus* L. in Iran, were investigated for the first time using bright field, polarizing and fluorescence microscopy with different staining techniques. In this plant, the ovary has one carpel, one ovule, dense, long villi with papillae and no peduncle. The ovule is anatropous, crassinucellate, bitegmic and has endothelium. Meiosis of megasporocyte results in a T-shaped tetrad and then chalazal megaspore develops into an embryo sac with the pattern of Polygonum type. The polar nuclei are close to the egg apparatus and even after egg fertilization remain separate from each other. In embryo sac of this plant specialized tissues like hypostase, postament and a cup-like operculum are formed. In seed, a layer of macrosclereid radial cells, double palisade layer and a tracheid bar which is surrounded by parenchymal cells that contain phenolic compounds, are present. In male gametophyte, the anthers are tetrasporangiate and their wall development follows the dicotyledonous type and consists of four layers: epidermis, endothecium, one middle layer and uninucleate secretory tapetum. Microspore development is simultaneous in sporangia of an anther and arrangement of microspores is mostly tetrahedral in callosic wall. Fibrous thickenings are developed in the endothecium when shed. Mature pollen grains are ellipsoidal, tricolpate and two-celled.

**Key words:** Embryo sac, Hypostase, Anther, Seed, *Ebenus stellata*, Fabaceae.