

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

زهرا بقایی فر^{۱*}، محمود مفیدی نیا^۱ و عبدالکریم چهرگانی راد^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 شکر تیغال *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 اتوزین و همتاکسیلین انجام شد. لام‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. نتایج نشان داد که بساک‌ها تراسپورائزی بوده و لایه مغزی از نوع پری پلاسمودیومی کاذب است. تترادهای میکروسپوری از نوع تتراهدردال و تترایگونال 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. یاخته‌های 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

گذشته‌های دور به دلایل مختلفی از جمله استفاده‌های دارویی، اقتصادی و بازرگانی مورد توجه بوده و موضوع مطالعات بسیاری قرار گرفته است (۴۰). در این تیره به دلایل مختلفی، از جمله شباهت‌های مورفولوژیکی، تقسیم بندی سرده‌ها 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 روش‌های جدید در شاخه‌ها و گرایش‌هایی از علم زیست‌شناسی است تا بتوان این مشکل را حل کرده و رده بندی‌های مناسب و دقیقی از اعضای این تیره بزرگ گیاهی و سایر تیره‌های گیاهی ارائه کرد (۳۷). رویان‌شناسی شاخه‌ای از علوم زیستی پایه‌ای است که در علومی از قبیل

گیاه شکر تیغال 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 پژوهش‌های انجام شده در سال‌های بعدی تعداد گونه‌های آن در فلات ایران به حدود ۷۰ مورد افزایش یافته است (۷). تیره *Asteraceae* بزرگترین تیره گیاهی است (۵). بر اساس گزارش‌های باغ گیاه‌شناسی سلطنتی کیو این تیره بیش از ۱۶۰۰ سرده و ۲۳۰۰۰ گونه دارد که سرده‌ها و گونه‌های فراوان آن، پراکنش جهانی دارند. اعضای این تیره از

گرده در یک ردیف در بخش میانی بساک (۲۲)، وجود پدیده Nemece 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 نماینده‌ای از جنس *Echinops* است.

مواد و روشها

گل‌ها و غنچه‌های 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 نمونه‌ها، آبگیری از نمونه‌ها توسط درجات افزایشی الکل (۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰) انجام شد. شفاف‌سازی نمونه‌ها با درجات مختلف مخلوط الکل و تولوئن (۱/۴، ۲/۴، ۳/۴ و ۴/۴) انجام شد. سپس نمونه‌ها پارافین دهی و قالب‌گیری شده و با روتاری میکروتوم مدل DS 4055 و ضخامت ۷-۵ میکرومتر برش‌گیری گردیدند. رنگ آمیزی با اتوزین (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 برش‌گیری شده و از بهترین آنها با دوربین نصب شده بر روی میکروسکوپ عکس برداری گردید.

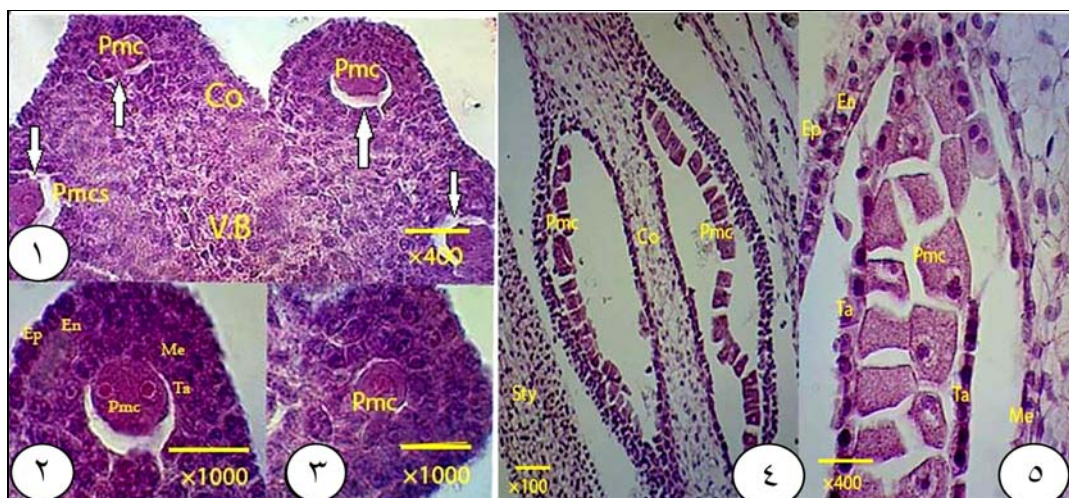
نتایج

تشکیل دیواره بساک: بساک در گیاه *E. ilicifolius* از نوع چهار کیسه‌گرده‌ای یا تتراسپورانژی است (تصویر ۱). یاخته‌های آرکنوسپوری در زیر اپیدرم تمایز پیدا می‌کنند.

تاکسونومی و مورفولوژی کاربرد دارد. شواهد رویان شناختی بطور فزاینده‌ای برای مطالعات تئوری و عملکردی درباره تولید مثل جنسی گیاه ضروری هستند. زیست‌شناسی 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 شکر تیغال برای درمان و یا تخفیف بیماری‌های ریوی بعنوان خلط‌آور، لپنت‌بخش سینه، برطرف‌کننده سرفه، رفع خشکی گلو، درمان تنگی نفس و آسم استفاده می‌شود. درمان‌های دیگری از قبیل درمان افسردگی، یبوست، چاقی، تب بری، متعادل‌کننده دستگاه گوارش، تسکین سوزش سردل نیز برای این گیاه ذکر شده است. شکر تیغال برای معده و دردهای احشایی مؤثر است. خاصیت نوتروپیک داشته و اثر مثبتی بر حافظه و قدرت یادگیری دارد. بدلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و وجود تری‌هالوز، شکر تیغال می‌تواند به عنوان داروی ضد سرطان، آلزایمر و هانتینگتون کاربرد داشته باشد (۶، ۹ و ۳۶). مطالعات متعدد سیتوشیمیایی، مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی در این جنس انجام شده است (۳۸ و ۴۰)، اما با وجود این 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: قرارگیری یاخته‌های مادر

شامل لایه اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه تاپی یا تغذیه ای است (تصویر ۲). لایه مغذی از یاخته‌هایی 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 (تصویر ۵).

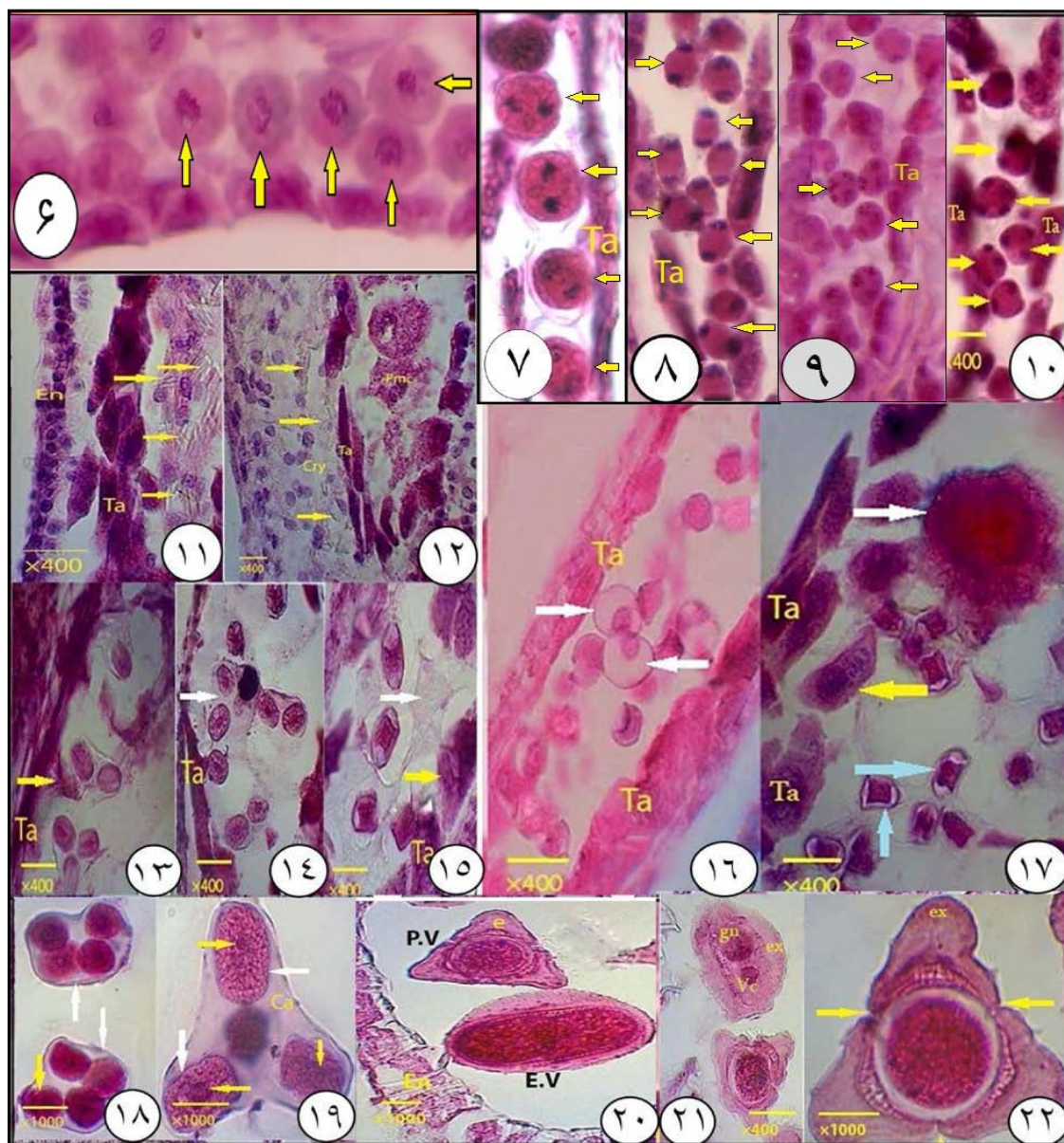
این یاخته‌ها که دارای سیتوپلاسم متراکم و هسته بزرگ و مشخصی هستند، با تقسیمات مماسی خود دو گروه یاخته را ایجاد می‌کنند. یاخته جداری که به سمت بیرون قرار می‌گیرد و یاخته هاگزا که طی تقسیم مماسی به سمت داخل قرار می‌گیرد. یاخته جداری با تقسیمات خود دیواره بساک چهار لایه‌ای را ایجاد می‌کند که از بیرون به داخل



تصویرهای ۱-۲۲- میکروسپورایی، تشکیل گامتوفیت نر و نمو دیواره بساک در *Echinops ilicifolius*. (۱) برش عرضی بساک، که چهار کیسه گرده را نشان می‌دهد (بساک تراسپورانژی). (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 یاخته‌های 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.

تقریباً تحلیل می‌روند اما هنوز باقیمانده آنها قابل مشاهده است (تصویرهای ۱۵، ۱۶ و ۱۷). ضمام حاصل از یاخته‌های لایه مغذی در مرحله دانه‌های گرده تک یاخته‌ای کم و بیش قابل مشاهده است (تصویرهای ۱۳ و ۱۵). لایه میانی در دیواره بساک مشخص می‌باشد (تصویرهای ۲ و ۵). در مرحله دانه‌های گرده دو یاخته‌ای، لایه مکانیکی هنوز ضخیم شدگی‌های فیبری را تشکیل نداده و یاخته‌ها هنوز زنده‌اند. اما در مرحله پایانی نمو دانه‌های گرده دو یاخته-ای، لایه مکانیکی ضخیم و فیبری می‌شود (تصویر ۲۰).

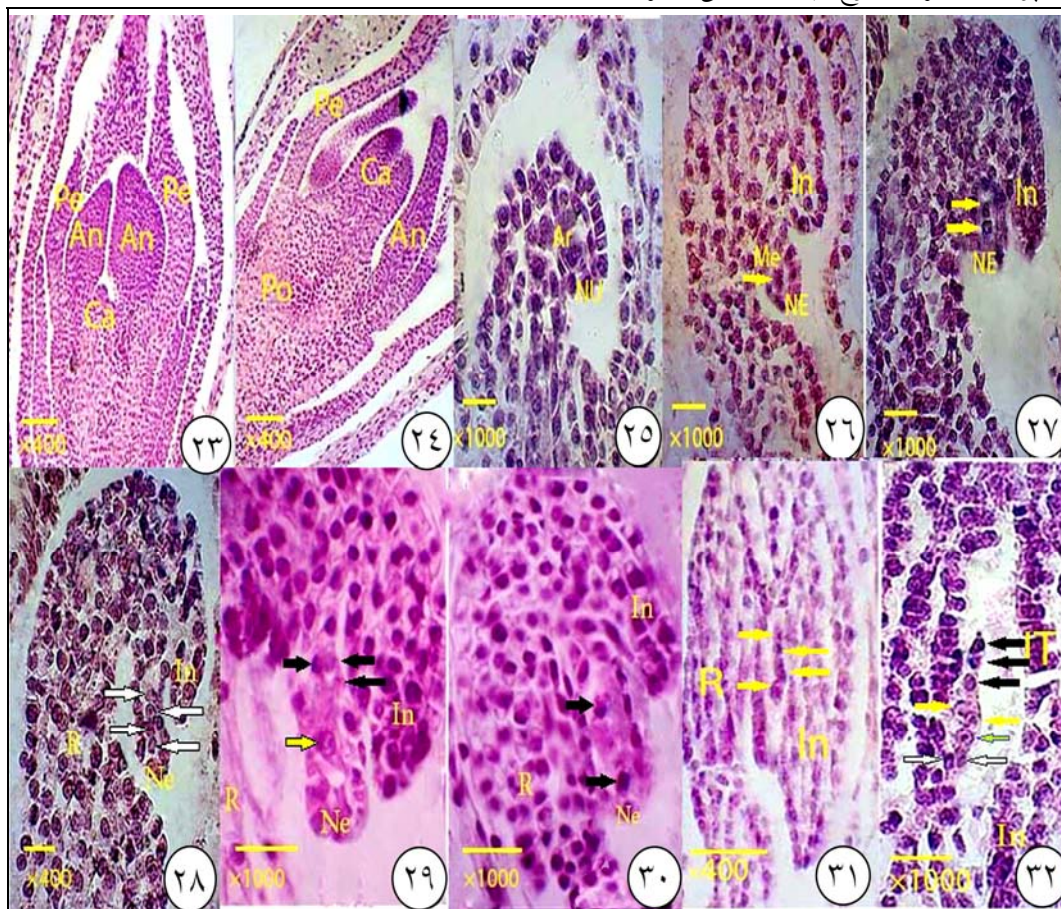
یاخته‌های لایه مغذی درجه بالایی از پلی‌پلوئیدی را از خود نشان می‌دهند که نتیجه تقسیمات پی‌درپی میتوزی است. در تشکیل دیواره بساک و نمو دانه گرده در مراحل می‌توان لایه مغذی از نوع ترشخی را مشاهده کرد که در طی این مراحل یاخته‌های لایه مغذی تحلیل نرفته و در جای خود ثابت هستند (تصویرهای ۵، ۱۱ و ۱۲). اما وقتی که میکروسپورها در حال نمو به دانه گرده بالغ (دو سلولی) هستند، ضمامی از یاخته‌های لایه مغذی به سمت حفره بساک تشکیل می‌شود. در مرحله ای که دانه‌های گرده تک یاخته‌ای یا دو یاخته‌ای هستند، یاخته‌های لایه مغذی



ادامه تصویرهای ۱-۲۲- 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، ۱۴، ۱۵) تترادهای میکروسپوری آزاد شده‌اند، لایه کالوزی در اطراف میکروسپورها مشخص است (↑ سفید رنگ). ضمانتی 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 واکنش نکرده‌اند. (۱۶) با واکنش شدن میکروسپورها هسته موجود در مرکز میکروسپور به کناری رانده می‌شود (↑). (۱۷) میکروسپورها در زمان آزاد شدن هنوز واکنش نکرده و دارای سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته مشخص و قرار گرفته در مرکز یاخته هستند (↑ آبی رنگ). میکروسپورها در حال واکنش شدن هستند. (۱۸) تتراد میکروسپوری از نوع تترگونال. (۱۹) تتراد میکروسپوری از نوع تترهدرال. (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 آگزین، 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).

(تصویر ۱۹) و بندرت از نوع چهار گوش (تتراگونال) (تصویر ۱۸) هستند. دیواره کالوزی در اطراف تتراده‌ها و لابه‌لای مواندها بخوبی قابل تشخیص است (تصویر های ۵ و ۷). زمانی که میکروسپورها وارد حفره بساک می‌شوند هنوز واکنله 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 آگزین در آنها تشکیل می‌شود (تصویر ۱۴). هسته که در موقعیت مرکزی قرار دارد با توسعه واکنله مرکزی، به موقعیت کناری رانده می‌شود (تصویر ۱۶).

میکروسپورزایی و نمو گامتوفیت نر: میکروسپوروسیت‌ها از تمایز یاخته‌های هاگزا به وجود می‌آیند (تصویرهای ۲ و ۳). با شروع مراحل مختلف میوز که شامل پروفاز I (تصویر ۵)، متافاز I (تصویر ۶)، آنافاز I (تصویر ۷)، تلوفاز I (تصویر ۸) و تلوفاز II (تصویر ۹) است در هر میکروسپور، تترادهای میکروسپوری تشکیل می‌شود. در طی میوز I سیتوکینز رخ نمی‌دهد، 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)



تصویرهای ۲۳-۳۲- مگاسپورزایی و تکوین مگامتوفیت 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 آرکتوسپوری (Ar)، NE: خورش؛ (۲۶) برش طولی تخمک با سلول مگاسپوری (Me). In: پوسته تخمک؛ (۲۷) برش طولی تخمک؛ (۲۸) برش طولی تخمک در مرحله تتراد میوز I (↑). (۲۹) برش طولی تخمک که مگاسپور عملکردی در قطب بنی را نشان می‌دهد (↑)؛ (۳۰) برش طولی تخمک

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

نظر شکل یاخته تخم‌زا شکل کروی داشته و با هسته درشتی که در بخش بنی خود دارد از یاخته‌های 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 یاخته‌های آنتی پود در کیسه رویانی بصورت خطی است و محل قرار گیری آنها در قطب بنی کیسه رویانی است. بافت آلبومن از تقسیمات سلول دو هسته‌ای حاصل می‌شود که تقسیمات این سلول قبل از لقاح شروع می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری

بساک و گامتوفیت نر: یاخته‌های آرکتوسپوری دارای سیتوپلاسم متراکم و هسته حجیم هستند که این ویژگی‌ها تشخیص این یاخته‌ها را آسان می‌کند. با تقسیمات مماسی که این یاخته‌ها انجام می‌دهند دو گروه یاخته حاصل می‌شود. یاخته جداری بیرونی و یاخته هاگ‌زای درونی (۴۲). در گیاه *E. ilicifolius* نمو دیواره بساک بر اساس تیپ دو لپه‌ای است (۱۵). لایه مکانیکی دارای ضخیم‌شدگی‌های فیبری است (۴۳). نمو لایه میانی در گونه مورد مطالعه مشاهده می‌شود. یک همبستگی آشکار بین تقسیمات میوزی در یاخته‌های مادر کرده و نمو لایه تاپی بساک وجود دارد که برای سایر گونه‌های این تیره نیز گزارش شده است (۱۹). یاخته‌های 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): ترشچی (جداری) و آمیبی (periplasmodial). در گیاه *E. ilicifolius* لایه تاپی از نوع پری پلاسمودیومی کاذب است که در آن ضمامی از

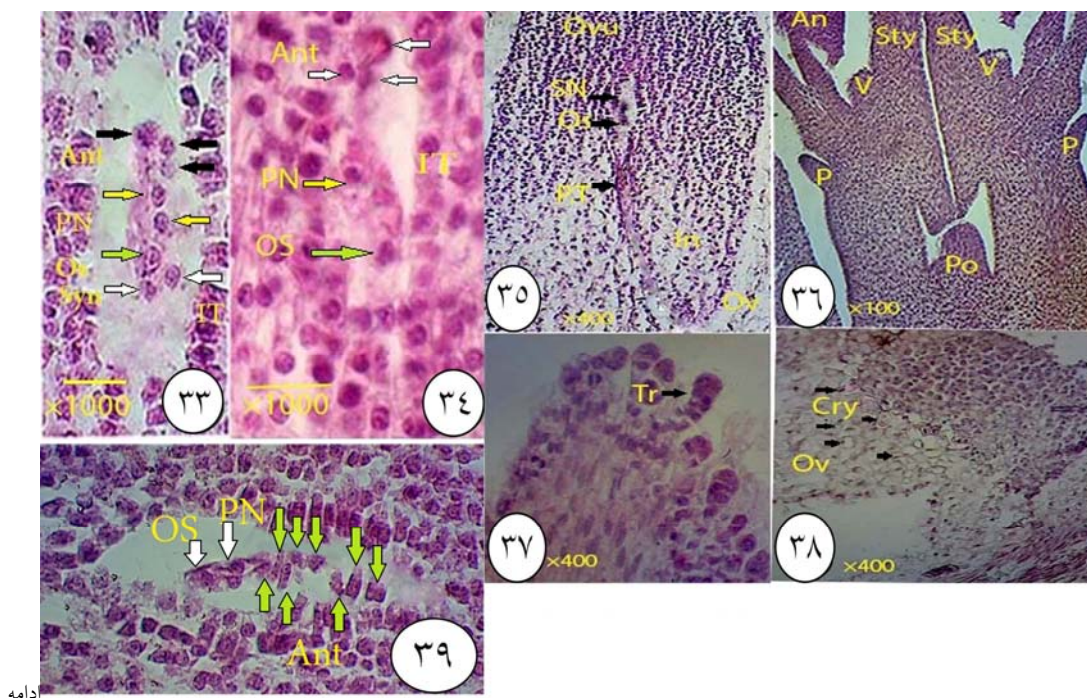
با تقسیمات میتوزی نابرابری که هسته انجام می‌دهد دو هسته نابرابر بوجود می‌آید. دانه کرده دو هسته‌ای (هسته بزرگ، رویشی و هسته کوچک، زایشی) در نهایت دو یاخته‌ای می‌شود (تصویر ۲۱).

مگاسپورزایی و نمو گامتوفیت ماده: گیاه *E. ilicifolius*

دارای یک تخمک است که درون تخمدانی دو برچه‌ای، تک‌خانه‌ای و زیرین قرار دارد. تخمک واژگون و تک‌پوسته‌ای 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 یاخته‌های بافت خورش در مراحل اولیه نمو تخمک به وجود می‌آید، بنابراین تخمک از نوع کم‌خورش 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 (تصویرهای ۲۷ و ۲۸). مگاسپور عملکردی دارای یک هسته است، بهمین دلیل کیسه رویانی یک هسته‌ای نامیده می‌شود (تصویر ۲۹). با تقسیمات میتوزی که یاخته مگاسپور عملکردی انجام می‌دهد، ابتدا کیسه رویانی دو هسته‌ای (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 یاخته‌ای می‌شود که نتیجه آن تشکیل کیسه رویانی بالغ است (تصویر ۳۴ و ۳۵). زمانی که کیسه رویانی بالغ شکل می‌گیرد مهاجرت هسته‌های قطبی نیز انجام می‌شود، مانند بیشتر نهان‌دانگان تیپ کیسه رویانی حاصل از نوع پلی-گونوم است (تصویرهای ۳۳ و ۳۴). قبل از لقاح، با مهاجرت هسته‌های 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

رفته و سیتوپلاسم آنها با هم ادغام می‌شود. لایه تاپی آمیبی برای گونه‌های متعددی از تیره Asteraceae گزارش شده است (۱) که با این نتایج همسویی دارد.

سمت لایه تاپی به داخل حفره بساک کشیده می‌شود. سلول‌های لایه تاپی ابتدا ترش‌حی بوده ولی با بلوغ میکروسپورها (گرده دو سلولی) لایه تاپی بتدریج از بین



تصویرهای ۳۳-۳۹ - مگاسپورزایی و تکوین مگاکامتوفیت 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. 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، به طوری که تعداد آنها به شش تا هشت عدد می‌رسد (↑ سبزرنگ). تخم‌زا: (os)، PN: هسته‌های قطبی، Po: پریموردیوم تخمکی، An: بساک‌ها.

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). تتراده‌ها که بیشتر از نوع تتراهدرا و بندرت از نوع تترگونال هستند، حاصل تقسیمات میوزی در یاخته‌های میکروسپوروسیت هستند. وجود تترادهای تتراهدرا و صلیبی شکل در گیاهان تیره Asteraceae گزارش شده است (۲، ۳ و ۳۰). تکوین میکروسپورهای دو کیسه‌گرده که در کنار هم هستند، همزمان انجام می‌شود. سیتوپلاسم متراکم، هسته حجیم و

در گیاه *E. ilicifolius*، یاخته‌های اولیه هاگزا که از تقسیمات یاخته‌های آرکتوسپوری حاصل شده‌اند مستقیماً به یاخته‌های مادر گرده تمایز پیدا می‌کنند؛ که در یک یا دو ردیف در بخش میانی بساک استقرار دارند (تصویرهای ۷ و ۸). البته قرار گرفتن یاخته‌های مادر گرده در یک ردیف در بخش میانی بساک در همه گلچه‌ها مشاهده نشد. در بیشتر گلچه‌ها دو ردیف یاخته‌های مادر گرده در بخش میانی بساک مشاهده شد. تعداد کمی از گونه‌ها وجود دارند که چنین ویژگی (استقرار یک ردیفه یاخته‌های

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 می‌دهند. در این گیاه تقسیمات سلول دو هسته ای قبل از تخم اصلی آغاز می‌شود و در نهایت بافت آلبومن را تشکیل می‌دهد. گروه سوم یاخته‌های آنتی پود را شامل می‌شود 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 گلچه‌های مورد مطالعه مشاهده گردید. در این نتایج گیاه *E. ilicifolius* یک نوع متفاوت از گلچه‌ها و یک تیپ مختلف از جنین‌شناسی را نشان می‌دهد. در بعضی از گلچه‌ها فقط افزایش یاخته‌های آنتی پود مشاهده می‌شود، به طوری که تعداد آنها به شش تا هشت 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 مکیه‌هاست (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 می‌شود. در بقیه کیسه‌های جنینی آنتی پود افزایش تعداد پیدا نمی‌کند و تعداد آنها سه عدد است.

شکل منظم در میکروسپورهایی که در حالت تتراد هستند مشاهده می‌شود. واکوئله شدن این میکروسپورها بعد از رها شدن از تتراد انجام می‌شود. هسته بزرگ هر میکروسپور با یک تقسیم میتوزی و نابرابری که انجام می‌دهد دو هسته نابرابر به وجود می‌آورد. هسته بزرگتر رویشی و هسته کوچکتر زایشی. بنابر این دانه گرده ابتدا دو هسته‌ای و بعد دانه گرده دو یاخته‌ای تشکیل می‌شود. نتایج پژوهش‌های Pullaiah و Lakshmi (۲۵) نشان داده است که دانه‌های گرده در مرحله بلوغ سه یاخته‌ای بوده که با یافته‌های 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 می‌روند. 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 می‌آورد که بعد به کیسه رویانی بالغ تمایز می‌یابد. 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 می‌یابند 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

منابع

- ۱- چهرگانی راد، ع؛ حاجی صادق‌یان، س؛ محسن زاده، ف. ۱۳۸۹. مطالعه مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Inula aucheriana* DC. مجله زیست‌شناسی ایران، ۶: ۲۸، -۱۵
- ۲- چهرگانی راد، ع؛ محسن زاده، ف؛ غفوری، س. ۱۳۹۳. بررسی مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Anthemism* *odontostephana* Boiss. *Cv. odontostephana* مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۷. ۴: ۵۵۶ - ۵۴۴،
- ۳- حاجی صادق‌یان، س؛ چهرگانی، ع؛ زارع، ش. ۱۳۸۸. رویان زایی در *Tripleurospermum disciforme* DC. تیپ جدید و نادر از رویان زایی. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۲. ۵: ۵۶۴ - ۵۷۲،
- ۴- رضا نژاد، ف؛ چهرگانی، ع. ۱۳۸۷. رویان‌شناسی گیاهان گلدار، واژگان و مفاهیم (ترجمه). انتشارات دانشگاه شهید باهنر کرمان، صفحه ۲۶۸،

- ۷- مظفریان ولی‌الله (۱۳۸۰). « بررسی تاکسونومیک جنس شکر تیغال در ایران ». مرکز اطلاعات مدارک علمی ایران، ۳-۲.
- ۵- فان؛ جعفری، آذر نوش (۱۳۸۹). آناتومی گیاهی، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، صفحه ۶۴۰.
- ۶- قهرمان، احمد (۱۳۸۹)، گیاه‌شناسی پایه، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۴۹۲.
- 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 the 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 annuus*). *Amer J Bot* 64:745-759.
- 24 - Johri, B. M., Ambegaokear, K. and Srivastava, P. S. 1992. *Comparative embryology of Angiosperms*. Springer-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.

- (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 Institute 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 is 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, unitegmatic 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.